Experimentelle Untersuchungen über die Grundlagen der Sterilität von Transformer-*(tra)* Männchen bei *Drosophila melanogaster*

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung

des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften

der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Sigrid Seidel

aus Königsberg/Ostpreußen

1963

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG, Würzburg

7652

Tag der mündlichen Prüfung: 24. 1. 1963

Dekan: Professor Dr. rer. nat. KARL G. GRELL

1. Berichterstatter: Professor Dr. rer. nat. W. BEERMANN

2. Berichterstatter: Professor Dr. rer. nat. KARL G. GRELL

Sonderdruck aus

Zeitschrift für Vererbungslehre, Band 94, S. 215—241 (1963)

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg

Zeitschrift für Vererbungslehre 94, 215—241 (1963)

Aus dem Max-Planck-Institut für Biologie, Abteilung Beermann, Tübingen

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE GRUNDLAGEN DER STERILITÄT VON *TRANSFORMER- (TRA)* MÄNNCHEN BEI *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Von

Sigrid Seidel

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Mai 1963)

A. Einleitung

Die Geschlechtsbestimmung bei *Drosophila* beruht auf dem Verhältnis zwischen der Anzahl der *X*-Chromosomen und der Anzahl der Autosomensätze. Dieser Geschlechtsbestimmungsmechanismus kann, wie schon von Sturtevant (1920) durch Untersuchungen an *Drosophila simulans* bewiesen wurde, durch autosomale Mutationen derart beeinflußt werden, daß Intersexe entstehen. Extrem geschlechtsumwandelnd wirkt eine 1945 von Sturtevant gefundene autosomale, rezessive Mutation bei *Drosophila melanogaster*. Diese „*transformer*"-Mutation (Symbol: „*tra*") liegt im dritten Chromosom zwischen dem Locus von „*scarlet*" („*st*"; 44,0) und dem Locus von „*clipped*" („*cp*"; 45,3). *XY: 2A*-Individuen, also normale Männchen, die außerdem homozygot „*tra*" sind, werden in ihrer Entwicklung von der Mutation nicht beeinflußt. Die Wirkung von „*tra*" ist allein auf „genetische Weibchen", d. h. *XX:2A*, bzw. *XXX:3A*-Individuen beschränkt. Diese entwickeln sich, wenn sie die Konstitution *tra/tra* besitzen, nicht zu Weibchen, sondern zu Männchen mit sterilen Hoden.

Die genaue Untersuchung der *X/X; tra/tra*-Individuen (im folgenden kurz als *tra-Tiere* oder *tra-Männchen* bezeichnet) hat gezeigt (Sturtevant 1945, Brown und King 1960), daß sie nicht in jeder Beziehung normalen *X/Y*- bzw. *X/O*-Männchen gleichen. Rein männlich sind die Abdominaltergiten, die Analplatten, die Organe des inneren Genitalapparates, sowie die Pigmentierung der Gonaden ausgeprägt; auch das Kopulationsverhalten der *tra*-Tiere ist das von Männchen. In den Geschlechtskämmen an den Tarsen der Vorderbeine — an sich ein typisch männliches Geschlechtsmerkmal — ist jedoch die Anzahl der Borsten im Durchschnitt um 18% geringer als bei *X/Y*-Männchen (Brown und King 1960). In der Körpergröße und in der Flügellänge sind die quantitativen Abweichungen von *X/Y*-Männchen noch größer; die Maße liegen zwischen denen von Männchen und Weibchen. Ganz weiblich verhalten sich die *tra*-Tiere in ihrer Entwicklungsgeschwindigkeit und in der Manifestationsweise bestimmter geschlechtsgebundener Mutationen. Eine Ausnahme macht nur das von Anders (1948) untersuchte Gen „*lozenge-clawless*", dessen Manifestationsmuster in *tra*-Tieren der genetischen Konstitution Blz^{cl}/lz^{cl} nicht dem von Weibchen, sondern dem von Männchen entspricht. — Goldschmidt (1953) hat auf Grund dieser Befunde die *tra*-Tiere nicht als Männchen, sondern als extreme weibliche Intersexe bezeichnet.

Die vorliegende Arbeit hatte das Ziel, das Problem der Sterilität der *tra*-Männchen experimentell anzugreifen und insbesondere die Bedeutung der *X*-Chromosomen-Konstitution in der Keimbahn der *tra*-Tiere zu prüfen. Abgesehen von einer kurzen Untersuchung von Muller (1955), die gezeigt hat, daß die Sterilität der *tra*-Tiere nicht durch das Fehlen der *Y*-Chromosomen verursacht

wird, ist die Frage bisher nicht weiter verfolgt worden. Gleichzeitig sollte die Manifestationsweise der Mutation „*tra*" im Soma und in der Keimbahn weiter als bisher spezifiziert werden.

Herrn Professor Dr. W. BEERMANN möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit und das stete Interesse an ihrem Fortgang herzlich danken. Für die Einführung in die Transplantationstechnik bin ich Herrn Professor Dr. E. HADORN (Zürich) und Herrn Dr. H. URSPRUNG (Zürich) sehr zu Dank verpflichtet. Herrn E. FREIBERG danke ich für die Anfertigung der schematischen Zeichnungen.

B. Material und Methode

Verwendete Stämme von *Drosophila melanogaster:*

a) *tra/Mé*, T_{23} (Bloomington);

b) *sc*^{8}. *Y/X.Y InEN y; ru h D Ins CXF/ru tra p* (Bloomington);

c) *w/w*;

d) *sc*^{s1}*B In w*^{a}*sc*^{8} (Zürich);

e) *sc*^{8}. *Y/X*^{c2} *y v* ♂♂ + *yf* ♀♀ (Bloomington).

Als Futter diente Standard-Maisbrei (Mais, Agar, Zucker, Hefe) in $^1/_4$ Liter-Milchflaschen. Die Zuchttemperatur betrug 25° C. Für die Transplantationsexperimente wurden Wirts- und Spenderlarven gesondert aufgezogen. Die Elterntiere legten ihre Eier in großen Zuchtflaschen (Durchmesser: 8 cm, Höhe: 22 cm) auf kleine Futterschälchen ab, die täglich gewechselt wurden. Die Aufzucht der 1-Tag-Gelege erfolgte in Zuchtschalen (Durchmesser: 10 cm, Höhe: 3,5 cm) auf Standard-Maisbrei mit reichlichem Frischhefezusatz.

Die Transplantationen wurden nach der von EPHRUSSI und BEADLE (1936) beschriebenen Methode durchgeführt.

Histologische Technik: Der innere Genitalapparat wurde zum Teil gleich nach der Sektion in Ringer-Lösung photographiert. Für die Anfertigung von Totalpräparaten erwies sich das Überziehen der auf dem Objektträger liegenden Organe mit 1%iger Agar-Lösung (HADORN, BERTANI und GALLERA 1949) als besonders günstig. Hierbei bleibt die Gestalt der Organe am besten erhalten. Die Präparate wurden anschließend in Carnoy fixiert und in Haemalaun nach MAYER angefärbt. — Zur Herstellung von Schnittserien wurden die Gonadenanlagen und imaginalen Gonaden in 1%iger OsO_4-Lösung (SJÖSTRAND) fixiert, in Methacrylat eingebettet und mit Hilfe eines Ultramikrotoms geschnitten (Schnittdicke: 1—2 μ). Nach Einbettung dieser Schnitte in Phasenkontrasteinschlußmittel W 15 (ZEISS) erübrigt sich eine zusätzliche Färbung. Die photographischen Aufnahmen wurden mit dem Photomikroskop von ZEISS im Phasenkontrast gemacht.

Kriterien zur Unterscheidung männlicher, weiblicher und *tra*-Larven: In *Drosophila*-stämmen der genetischen Konstitution *X/X; tra/tra* bzw. in Kreuzungsnachzuchten, die homozygote *tra*-Tiere enthalten, ist die Unterscheidung männlicher und weiblicher Larven erschwert, da die Gonadenanlagen der *X/X; tra/tra*-Larven ihrer Größe nach zwischen denen der echten Männchen und denen der Weibchen liegen (Abb. 1, Ov: Durchmesser 0,07 bis 0,09 mm; *tra:* Durchmesser 0,09—0,18 mm; Ho: 0,25—0,3 mm lang und 0,16—0,19 mm breit). Der Stamm *sc*^{8}*.Y/X.Y InEN y; ru h D Ins CXF/ru tra p* bietet auf Grund seiner genetischen Markierung eine Möglichkeit zur Unterscheidung von *X/X*- und *X/Y*-Larven unabhängig von der Ausgestaltung der Gonadenanlagen. *X/X*-Tiere sind homozygot „*yellow*" (*y*), *X/Y*-Tiere dagegen heterozygot *y/+* (Plusallel im *sc*^{8}*.Y*-Chromosom). Da die Mutation „*yellow*" die Ausfärbung der larvalen Mundhaken beeinflußt (*y/y* = gelbbräunlich, *y/+* = schwarz), kann man mit dieser genetischen Markierung *X/X*-Larven von *X/Y*-Larven unterscheiden. Trennt man anschließend die *X/X*-Larven nach der Farbe ihrer Malpighi-Gefäße

(p/p = farblos, $p/+$ = gelb), so erhält man, da „*pink*" mit „*tra*" gekoppelt ist, auf der einen Seite die weiblichen Larven (X/X; *tra* $p/++$), auf der anderen Seite die *tra*-Larven der genetischen Konstitution X/X; *tra* p/*tra* p.

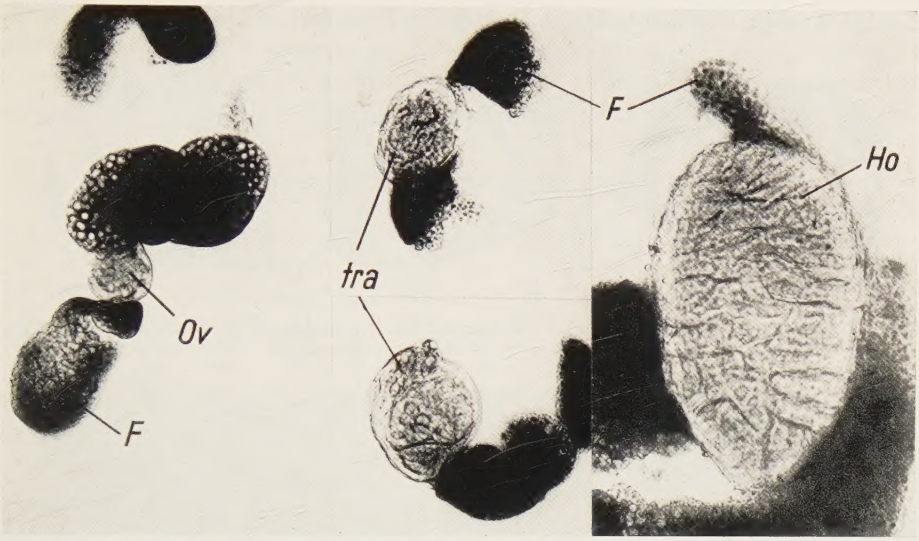


Abb. 1. Weibliche (*Ov*), *tra*- und männliche (*Ho*) Gonadenanlagen des dritten Larvenstadiums. *F* Fettkörper; OsO_4, Methacrylatschnitt, Phasenkontrast. Vergr. 30mal

C. Cytologie der *tra*-Gonaden in der Postembryonalentwicklung im Vergleich mit entsprechenden Stadien männlicher und weiblicher Gonaden

I. Die männlichen Gonadenanlagen während der Larvenentwicklung

Hodenanlagen enthalten im ersten Larvenstadium (Abb. 2, III) nur primäre Spermatogonien, die ein geschlossenes Zellgefüge bilden. Das Cytoplasma der primären Spermatogonien läßt im Phasenkontrast dunklere und hellere Bereiche erkennen, wirkt aber insgesamt dunkler als der Kern. Die Kernmembran ist stets

Abb. 2. Gonadenanlagen des ersten Larvenstadiums (Querschnitt). I. Ovaranlage, II. *tra*-Gonadenanlage, III. Hodenanlage. *O* Oogonien; *Spg* Spermatogonien. OsO_4, Methacrylatschnitt, Phasenkontrast. Vergr. 960mal

von einem Kranz dunkler Granula von wechselnder Größe umgeben (Abb. 3c). Der Nukleolus liegt zentral und ist auffallend groß. Charakteristisch für die Nukleolen der Spermatogonien ist ihr Aufbau: eine stark geschwärzte periphere Schicht ist stets deutlich gegen einen helleren Binnenraum abgegrenzt.

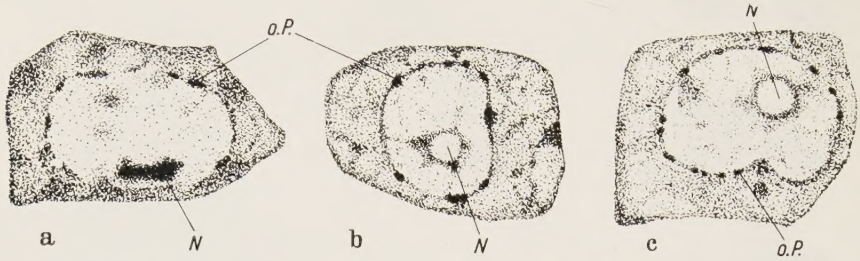


Abb. 3. a weibliche, b *tra-* und c männliche Keimzellen im Gonienstadium. *N* Nukleolus; *o.P.* osmiophile Partikel an der Kernmembran. Nach Methacrylatschnitten. Vergr. etwa 2900mal

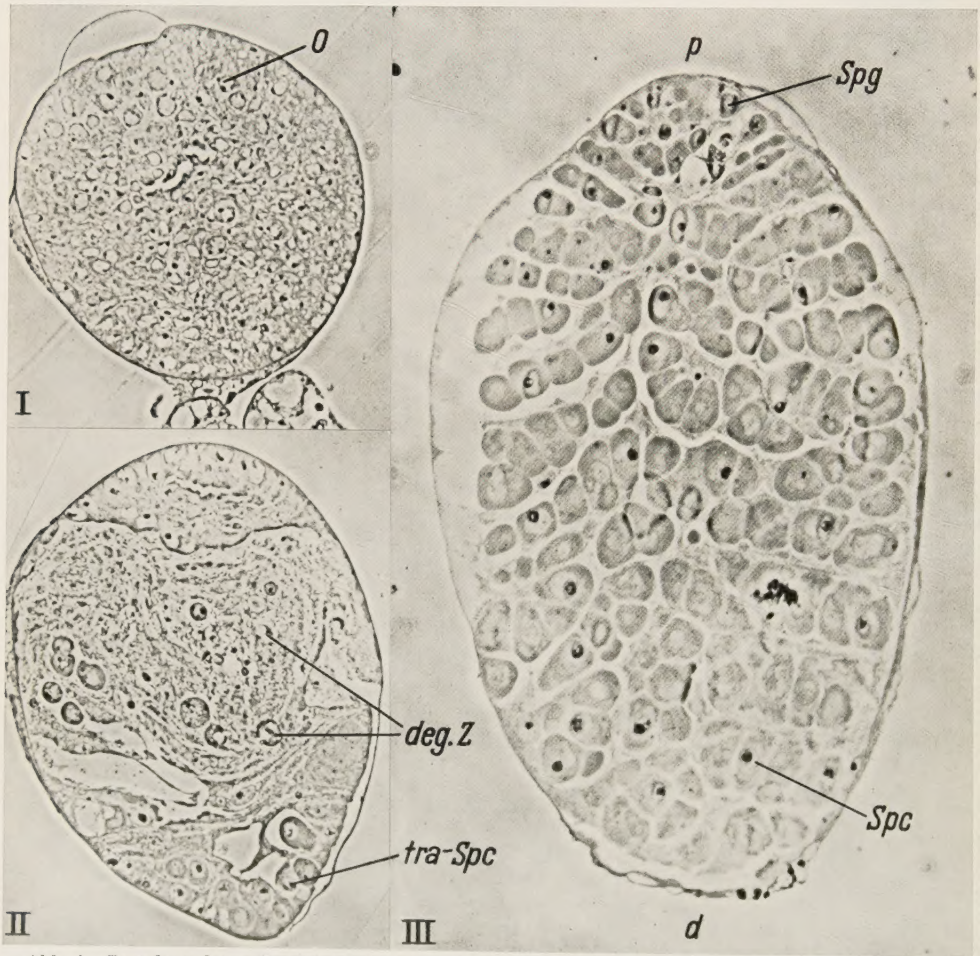


Abb. 4. Gonadenanlagen des dritten Larvenstadiums (Längsschnitt). I. Ovaranlage, II. *tra*-Gonadenanlage, III. Hodenanlage. *p* proximal; *d* distal; *O* Oogonien; *Spg* Spermatogonien; *Spc* Spermatocyten; *deg.Z* degenerierte Zellen in verschiedenen Stadien der Degeneration. OsO_4, Methacrylatschnitt, Phasenkontrast. Vergr. 480mal

Mit Beginn des zweiten Larvenstadiums macht sich in den Hodenanlagen eine deutliche Gliederung bemerkbar. Außer primären treten auch sekundäre Spermatogonien auf. Diese ordnen sich zu Zellgruppen, die durch Septen aus interstitiellen Zellen voneinander getrennt sind. Die Zellen jeder Gruppe gehen nach Pontecorvo (1944) in synchronen Teilungen aus einer primären Spermatogonie hervor (Abb. 5). Die nach Ablauf des vierten synchronen Teilungsschrittes entstandenen 16 Zellen werden als primäre Spermatocyten bezeichnet. Die ersten

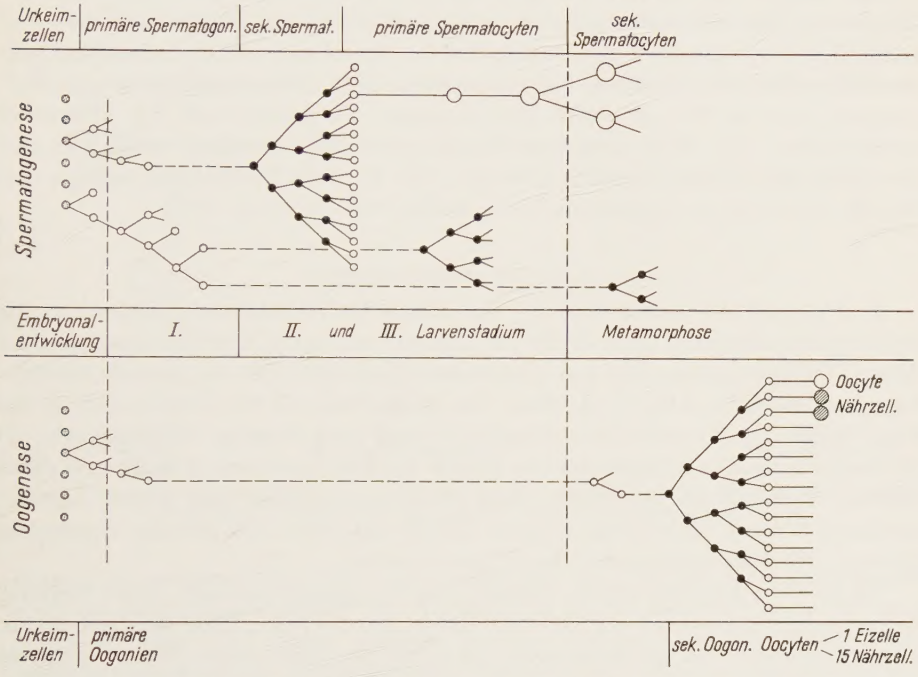


Abb. 5. Schematische Darstellung der Differenzierung männlicher und weiblicher Urkeimzellen während der Embryonal- und Postembryonalentwicklung

primären Spermatocyten treten bei 28 Std alten Larven auf, d. h. kurz nach Beginn des zweiten Larvenstadiums (Bodenstein 1950). Das Spermatocytenstadium ist durch eine Wachstumsphase gekennzeichnet; die größten Spermatocyten liegen am distalen Pol der Anlage. Spermatogonien und Spermatocyten lassen sich demnach durch ihre Lage innerhalb der Gonadenanlage, weiterhin durch die Anzahl der Zellen in einer Zellgruppe (2, 4 oder 8 sekundäre Spermatogonien, 16 primäre Spermatocyten) und schließlich durch die Größe der Zellen unterscheiden.

Hodenanlagen des dritten Larvenstadiums heben sich von solchen des zweiten Larvenstadiums nur durch Vermehrung der Zellen und weiteres Wachstum der Spermatocyten ab (Abb. 4, III).

II. Die weiblichen Gonadenanlagen während der Larvenentwicklung

Ovaranlagen sind immer kleiner als Hodenanlagen (Abb. 1, 2, 4, I und III). Dies beruht nicht auf der unterschiedlichen Zellgröße von Oogonien und Spermatogonien, sondern auf Unterschieden in der Zellzahl, die bereits embryonal

angelegt sind (SONNENBLICK 1941). Ovaranlagen entwickeln sich aus 5—7, Hodenanlagen dagegen aus 9—13 Urkeimzellen. Diese Differenz der Zellzahlen wird durch die folgenden Mitosen, die in Ovar- und Hodenanlagen etwa in gleichem Rhythmus ablaufen, weiter vergrößert.

Im ersten Larvenstadium bilden die primären Oogonien ein ungegliedertes, dichtes Zellgefüge. Die Struktur der einzelnen Oogonien ist in den Grundzügen derjenigen von primären Spermatogonien sehr ähnlich (Abb. 3a, c). Der einzige charakteristische Unterschied ergibt sich aus der Lage und Gestalt der Nukleolen. Die Oogoniennukleolen liegen stets der Kernmembran an und sind einheitlich strukturiert. In Ovaranlagen des zweiten und dritten Larvenstadiums vermehren sich die primären Oogonien weiter, ohne daß eine Gliederung in Zellgruppen, wie sie für gleichalte Hodenanlagen charakteristisch ist, erkennbar würde (Abb. 4, I). Erst nach dem Einsetzen der Metamorphose entwickeln sich die ersten sekundären Oogonien (Schema Abb. 5). Primäre Oocyten wurden erst 30—80 Std nach der Puppariumbildung beobachtet (BUCHER 1957).

III. Die tra-Gonadenanlagen

1. Während der Larvenstadien. Im ersten Larvenstadium entsprechen die *tra*-Gonadenanlagen in ihrer Größe und Zellzahl normalen Hodenanlagen gleichen Alters. Sie sind gleichmäßig von Keimbahnzellen erfüllt, die wie normale Spermatogonien aussehen (Abb. 2, II; 3b). Die Nukleolen von *tra*-Gonien sind in der Regel nicht der Kernmembran angelagert und stets kugelig. Sie sind wie die Nukleolen normaler Spermatogonien in eine dunklere periphere Schicht und einen helleren Binnenraum gegliedert. Die *tra*-Keimbahnzellen des ersten Larvenstadiums können deshalb trotz ihrer *X*/*X*-Konstitution als primäre Spermatogonien (*„tra-Spermatogonien"*) bezeichnet werden.

Im zweiten Larvenstadium wachsen die *tra*-Gonadenanlagen unter weiterer Zellvermehrung zunächst im gleichen Grade wie normale Hodenanlagen heran. Dabei nimmt ein Teil der Zellen auch an Größe zu. Diese Zellen liegen durchweg im distalen Bereich der Anlage und sind zu Gruppen von maximal 16 Zellen zusammengefaßt, die durch Septen aus interstitiellen Zellen gegeneinander abgegrenzt werden. Die herangewachsenen *tra*-Keimzellen dieses Stadiums können daher als primäre *tra*-Spermatocyten bezeichnet werden.

Obwohl ein Teil der *tra*-Keimbahnelemente sich allem Anschein nach bis zum Stadium der primären Spermatocyte differenziert, sind andere *tra*-Keimzellen in ihrer Entwicklung gestört. Vielfach sind die von interstitiellen Zellen gebildeten Hodenfächer nicht vollständig mit Keimzellen ausgefüllt, was in normalen Hodenanlagen nie der Fall ist. Die Zellen liegen verstreut und sind in feinkörniges, nicht mehr zellig gegliedertes Material eingebettet. Innerhalb einer Zellgruppe finden sich auch oft neben normalen *tra*-Spermatogonien bzw. *tra*-Spermatocyten Zellen, die unregelmäßig geformte, cytoplasmatische Einschlüsse enthalten. Die Zellen scheinen zu schrumpfen und schließlich zu zerfallen. Vermutlich geht das feinkörnige Material in den *tra*-Hodenfächern aus den Zerfallsprodukten dieser Zellen hervor.

Noch deutlicher werden die Degenerationsvorgänge in *tra*-Gonadenanlagen des dritten Larvenstadiums (Abb. 4, II). Hier variieren die Anlagen in ihrer Größe und ihrem Zellbestand beträchtlich. In den kleineren *tra*-Gonadenanlagen findet

man neben kleineren Zellgruppen nur noch aufgelöstes Zellmaterial; auch Septen sind meist nicht mehr vorhanden. Die wenigen, nicht degenerierten *tra*-Keimzellen sind vermutlich primäre oder sekundäre *tra*-Spermatogonien. Diejenigen Keimbahnzellen, die ihrer Größe wegen als *tra*-Spermatocyten angesehen werden können, sind in der Regel schon degenerativ verändert. Vakuolisiertes Cytoplasma, teilweise oder völlig aufgelöste Zellmembranen, atypisch in die Länge gezogene Kerne, Verklumpung und Zerfall des Kernmaterials kennzeichnen diese Veränderungen.

Die Entwicklung der *tra*-Keimzellen (Schema Abb. 6) während der drei Larvenstadien ist also im Ganzen durch den Antagonismus zwischen Differenzierung und Degeneration gekennzeichnet. Mit der fortschreitenden Differen-

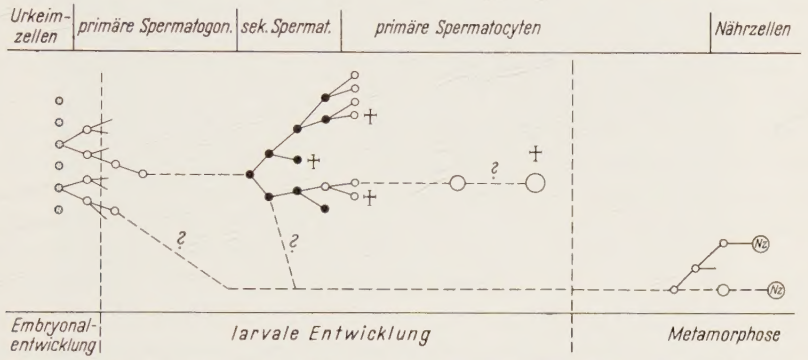


Abb. 6. Schematische Darstellung der Differenzierung von *tra*-Urkeimzellen (genetische Konstitution *X/X; tra/tra*) während der Embryonal- und Postembryonalentwicklung

zierung der sekundären *tra*-Spermatogonien und der primären *tra*-Spermatocyten wird das Zellgefüge innerhalb der Hodenfächer immer lockerer; mehr und mehr Zellen zerfallen, und immer größere Bereiche werden von degeneriertem Zellmaterial eingenommen. Wichtig ist die Beobachtung, daß neben einigen primären *tra*-Spermatocyten in verschiedenen Stadien der Degeneration stets Gruppen von unbeeinträchtigten *tra*-Spermatogonien erhalten bleiben, die sich in späteren Stadien (siehe unten) noch weiter ausdifferenzieren können.

2. tra-Gonaden während und nach der Metamorphose. In den pupalen und imaginalen *tra*-Gonaden ist der Zellbestand von Fall zu Fall sehr unterschiedlich (Abb. 7). Selbst in den Gonaden ein und desselben Tieres sind Anzahl und Differenzierungsstadien der Keimzellen nicht immer gleich. Zum Alter der Puppen bzw. Imagines besteht dabei keine Beziehung. Alle Gonaden enthalten in größerer oder geringerer Anzahl *tra*-Spermatogonien, wie sie für die Larvenstadien beschrieben worden sind. Die *tra*-Spermatogonien bleiben auch weiterhin teilungsfähig, wie die ab und zu beobachteten Mitosen zeigen (Abb. 14a). In einigen Gonaden findet man Zellen, die in ihrer Größe und Struktur den in den larvalen *tra*-Gonaden gefundenen Wachstumsstadien gleichen (primäre Spermatocyten). Meist sind sie nur geringfügig vergrößert. Weiter herangewachsene und entsprechend degenerierte *tra*-Spermatocyten werden in pupalen und imaginalen *tra*-Gonaden nur selten beobachtet. Der größte Teil der Gonaden ist stets von zerfallenem Zellmaterial erfüllt.

Auf jeden Fall wird also in den *tra*-Tieren im Gegensatz zu normalen *X*/*Y*-Männchen die Spermatogenese auch in der Metamorphose nicht über das Stadium der primären Spermatocyten hinaus fortgesetzt. Hierin ändert sich gegenüber den

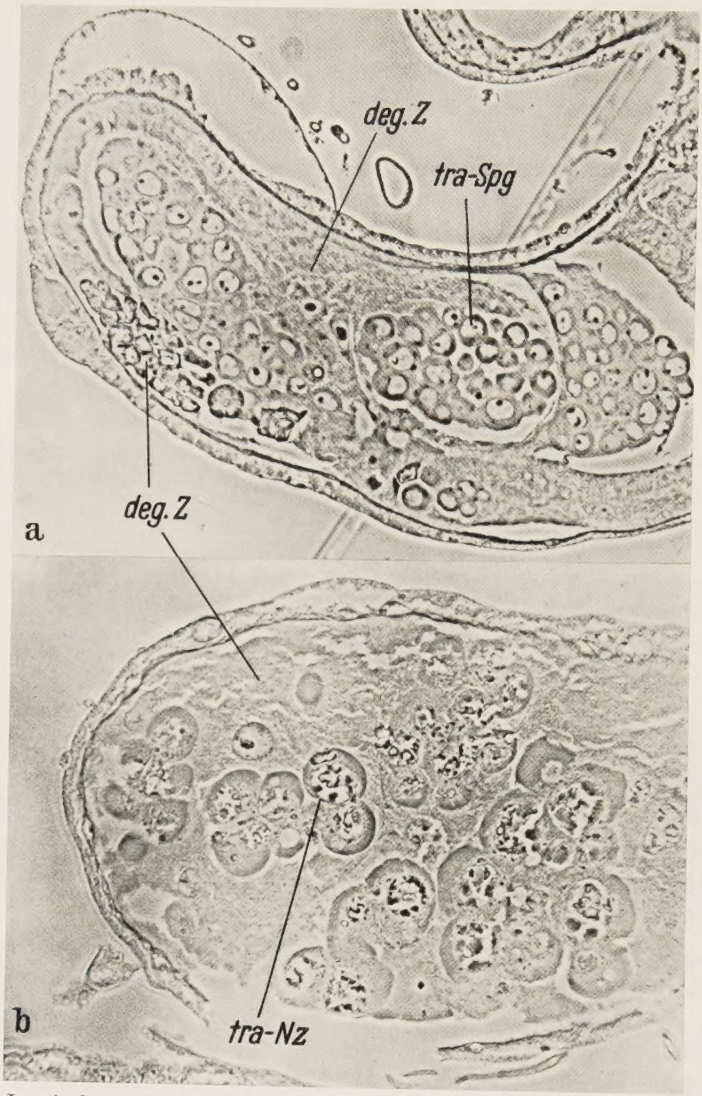


Abb. 7 a u. b. Imaginale *tra*-Gonaden. a Längsschnitt durch die distale Region. b Querschnitt durch die proximale Region. *tra-Spg tra*-Spermatogonien; *tra-Nz tra*-Nährzellen; *deg.Z.* degenerierende Zellen. OsO_4, Methacrylatschnitte, Phasenkontrast. Vergr. 530mal

Verhältnissen in larvalen *tra*-Gonaden nichts. Dagegen tritt während der Metamorphose in den *tra*-Gonaden ein ganz neuer Zelltyp auf. Diese Zellen, die sich gemeinsam durch die auffallende Strukturierung ihres Kerns auszeichnen (Abb. 7b), kommen in sehr verschiedenen Größen vor. Die kleinsten von ihnen sind zwar meist größer als Spermatogonien, aber stets deutlich kleiner als ausgewachsene Spermatocyten; die größten dagegen erreichen oder überschreiten die

Größe von herangewachsenen Spermatocyten noch. Meist sind diese Zellen in Gruppen zu mehreren zusammengelagert, bilden aber nie geschlossene Nester von 16 Zellen, wie die Spermatocyten. Mitosen wurden in diesen Zellen nicht beobachtet. In allen Merkmalen ist eine auffallende Übereinstimmung mit den Nährzellen in den Ovarien normaler Weibchen gegeben. Allerdings wachsen *tra*-Nährzellen nicht zu der Größe von ausgewachsenen normalen Nährzellen heran.

Auch Brown und King (1960) haben das Auftreten polyploider Nährzellen in den *tra*-Gonaden beschrieben. Die unterschiedlichen Kerngrößen dieser Zellen führen sie auf unterschiedliche Polyploidiestufen zurück. Darüber hinaus sollen nach Brown und King zwischen den Nährzellen vereinzelt auch Oocyten vorkommen, deren Kern durch eine kompakte, intensiv Feulgen-positive Karyosphäre („Karyosom") gekennzeichnet sein soll. Derartige Stadien konnten in den eigenen Präparaten nicht beobachtet werden.

tra-Nährzellen und *tra*-Spermatogonien sind abgesehen von einzelnen Zellen, die das Spermatocytenstadium erreicht haben, die einzigen Zelltypen in imaginalen *tra*-Gonaden. Da Oogonien und Oogonien-ähnliche Zellen in den larvalen und pupalen *tra*-Gonaden nicht vorkommen, müssen sich die *tra*-Nährzellen ebenso wie die *tra*-Spermatocyten von *tra*-Spermatogonien ableiten (Abb. 6). Die *tra*-Nährzellen sind in der Regel in Gruppen zu mehreren zusammengefaßt und in degeneriertes Zellmaterial eingebettet. In imaginalen Gonaden liegen diese Nährzellgruppen meist nur im mittleren Bereich. Weiter distal in der Nähe des Vas efferens findet man nur Zellfragmente (Abb. 15a).

Die somatischen Anteile der *tra*-Gonaden differenzieren sich im Einklang mit der Entwicklung des inneren Genitalapparates. Die *tra*-Gonaden verwachsen im Verlauf der Metamorphose normal mit den Vasa efferentia, erreichen aber nur $^1/_5$ der Länge normaler Hoden. Dies ist allem Anschein nach lediglich eine Folge der Entwicklungshemmung der Keimzellen. Die intensivere Ausfärbung der Hodenhülle beruht nach Brown und King (1960) und eigenen Beobachtungen darauf, daß die pigmentführenden Zellen mehrschichtig liegen.

Nachdem die Entwicklung der *tra*-Keimzellen in den Larvenstadien ausgesprochen männlich geprägt war, kommt also in und nach der Metamorphose in den *tra*-Gonaden mit der Differenzierung von Nährzellen eine weibliche Entwicklungstendenz hinzu. Über das Vorkommen intersexer Einzelzellen kann mangels geeigneter Kriterien nichts ausgesagt werden.

D. Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklungspotenzen der *tra*-Keimbahnzellen

I. Transplantation von Hodenanlagen in X/X; tra/tra-Larven

Wie die histologischen und cytologischen Untersuchungen gezeigt haben, manifestieren sich in der Keimzellenentwicklung der *tra*-Gonadenanlagen zuerst nur männliche, später aber auch weibliche Tendenzen. Die Entwicklung führt jedoch weder zu einer normalen Spermatogenese noch zur Bildung von normalen Eianlagen. Sie endet in der Regel mit der Degeneration der Keimzellen. Es stellt sich nun die Frage, ob das beobachtete Entwicklungsverhalten der *X/X; tra/tra*-Keimbahnzellen in den *tra*-Gonaden autonom ist, oder ob es durch die genetische Konstitution im Soma der *tra*-Tiere verursacht oder mitbestimmt wird.

Zur Prüfung dieser Frage wurden Transplantationsversuche nach der Methode von Ephrussi und Beadle (1936) durchgeführt. Im ersten Experiment (Abb. 8)

wurden in der ersten Serie Hodenanlagen von normalen *w*-Spenderlarven in *tra*-Larven des *tra*/*Mé*-Stammes implantiert. Spender- und Wirtsgonaden befanden sich teils im zweiten, teils im dritten Larvenstadium (Tabelle 1).

Die geschlüpften Wirtstiere wurden anschließend mit homozygoten *w*-Weibchen in Einzelkulturen angesetzt. Unter den 30 *tra*-Tieren, deren Transplantat bei der Sektion nachgewiesen werden konnte, erwiesen sich sechs als fertil. Die Nachkommenschaft dieser sechs Tiere war einheitlich weißäugig, was zeigt,

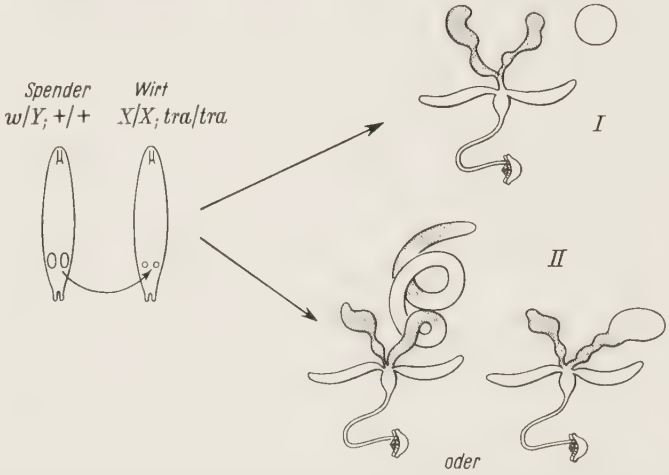


Abb. 8. Transplantation von *w*/Y-Hodenanlagen in *tra*-Larven. *I* Solitäre Entwicklung des Implantats (*w*/Y-Gonadenanteile = weiß, *tra*-Gonadenanteile = punktiert), *II* Fusion des Implantats mit einer Wirtsgonade

Tabelle 1. *„w"-Implantat in tra/tra-Wirt*
Serie 1: unter Verwendung des *tra-Mé*-Stammes.

Larvenstadium		Geschlüpfte transplantierte Tiere	Fusion Männchen		Implantat solitär
Implantat	Wirt		steril	fertil	
Mitte 2	Mitte 2	9	5	0	4
Mitte 3	Mitte 3	4	2	0	2
spät 3	Mitte 3	13	4	5	4
spät 3	spät 3	4	1	1	2
		30	12 = 40 %	6 = 20 %	12 = 40 %

daß die Eier tatsächlich von Spermien besamt wurden, die sich aus den Keimzellen der implantierten *w*-Hodenanlagen entwickelt hatten.

Wie die anschließende Präparation der Wirtstiere ergab, hatten die implantierten Gonaden im Verlauf der Entwicklung entweder 1. eine Fusion mit einer der beiden Wirtsgonaden (Abb. 8, II) gebildet und damit Anschluß an die Ausführgänge des Wirtsgenitalapparates gewonnen, oder 2. sie hatten sich solitär, ohne Verbindung mit einem der Vasa efferentia des Wirtstieres entwickelt (Abb. 8, I). In keinem Falle war das Implantat direkt, d. h. ohne gleichzeitige Fusionsbildung, an eines der Vasa efferentia angewachsen.

Bei 12 der 18 gefundenen Fusionen (Tabelle 1) saß das Implantat als ein in sich einheitlicher Sack der Wirtsgonade terminal an (Abb. 8, II). Orcein-Milchsäure-Quetschpräparate zeigen, daß Spermatogenese und Spermiohistogenese in diesen Implantaten normal ablaufen, jedoch werden die gebildeten Spermien nicht beweglich. Von diesen 12 Implantaten wurde dementsprechend auch keine

Nachkommenschaft erhalten. In den restlichen sechs Tieren, die sich als fertil erwiesen hatten, war stets eine „Mischgonade" ausgebildet worden (Abb. 8, II, links). Das farblose Hüllgewebe des Implantats erstreckte sich in einzelnen Flecken über die ganze Länge des äußerlich einheitlichen Hodenschlauches. In allen sechs „Mischgonaden" war das Vas efferens und zumeist auch der distal sich anschließende Abschnitt gelb pigmentiert. Die histologische Untersuchung zeigte erwartungsgemäß, daß die „Mischgonaden" alle Stadien der normalen Spermatogenese und Spermiohistogenese bis zur Entwicklung beweglicher Spermien enthielten. Obwohl den Spermien in Richtung auf die Ausführgänge degeneriertes *tra*-Zellmaterial vorgelagert war, müssen die Spermien durch dieses hindurch in das Vas efferens gelangt sein, wo sie anschließend beweglich werden konnten. Daß es sich bei diesen Spermien nur um solche handelt, die sich aus Keimzellen der implantierten Gonadenanlagen entwickelten, ist durch die Produktion einer einheitlichen *w*-Nachkommenschaft demonstriert.

Tabelle 2. „*w*"-*Implantat in tra/tra-Wirt*
Serie 2: unter Verwendung des *tra-pink*-Stammes.

Larvenstadium		Geschlüpfte transplantierte Tiere	Fusion Spermien		Implantat solitär
Implantat	Wirt		beweglich	unbeweglich	
früh 2	Mitte 2	4	0	3	1
früh 2	spät 2	2	1	0	1
Mitte 2	Mitte 3	5	0	3	2
früh 3	Mitte 3	13	1	6	6
früh 3	spät 3	5	0	4	1
Mitte 3	Mitte 3	6	0	3	3
Mitte 3	spät 3	23	3	11	9
spät 3	früh 3	12	4	6	2
Puppe früh	Mitte 3	7	2	2	3
		77	11	38	28
			– 14 %	– 50 %	– 36 %

Die solitären Implantate fanden sich abgekugelt frei im Abdomen liegend. Spermatogenese und Spermiohistogenese waren in ihnen ungestört abgelaufen; bewegliche Spermien wurden jedoch nicht beobachtet.

Eine zweite Transplantationsserie wurde in der gleichen Anordnung, jedoch mit Wirtslarven des zweiten *tra*-Stammes durchgeführt. Von den 77 geschlüpften Wirtstieren, die in Einzelkulturen mit homozygoten *w*-Weibchen angesetzt wurden, erwies sich keines als fertil.

Bei 49 von 77 untersuchten Tieren (Tabelle 2) hatten sich Fusionsgonaden entwickelt. 11 dieser Fusionsgonaden glichen in der Verteilung des gelben Pigments und in der äußeren Form den „Mischgonaden" der sechs fertilen Wirtstiere der ersten Serie. Sie enthielten sämtlich bewegliche Spermien; dennoch erwiesen sich die *tra*-Wirte im Kreuzungsansatz als steril. Die Ursache hierfür ist nicht bekannt. Sie könnte mit der besonderen Konstitution der *X*-Chromosomen der *tra*-Wirte zusammenhängen.

Wie aus den beiden Serien dieses ersten Transplantationsexperimentes hervorgeht, werden Spermatogenese und Spermiohistogenese in normalen Hodenanlagen durch Implantation der Anlagen in *tra*-Larven nicht gehemmt. Die gebildeten Spermien werden, soweit sie (wie in den „Mischgonaden") in die Nähe des Vas efferens gelangen können, beweglich und erweisen sich in einzelnen Fällen auch als besamungs- und befruchtungsfähig. Den gleichen Schluß erlaubten genetische Experimente von Novitski (1951).

II. Transplantation von tra-Gonadenanlagen in normale männliche Larven

Für die Entwicklungsstörung, die in *tra*-Gonadenanlagen wirksam wird, gibt es in Anbetracht der vorstehenden Befunde noch zwei Erklärungsmöglichkeiten: 1. das beobachtete Entwicklungsverhalten der Keimbahnzellen in den *tra*-Gonaden ist völlig autonom, oder 2. es besteht eine spezifische Wechselwirkung zwischen den *tra*-Keimbahnzellen und dem *tra*-Soma. Ausgeschlossen ist durch das erste Transplantationsexperiment die Möglichkeit, daß das somatische *tra*-Milieu generell auf männliche Keimzellen entwicklungshemmend wirkt.

Tabelle 3. *„tra"-Implantat in „w"-Wirte*

Larvenstadium		Geschlüpfte transplantierte Tiere	Implantat an V.c. angewachsen	Fusion	Implantat solitär
Implantat	Wirt				
früh 3	spät 3	43 = 100 %	9 = 20 %	13 = 30 %	21 = 50 %

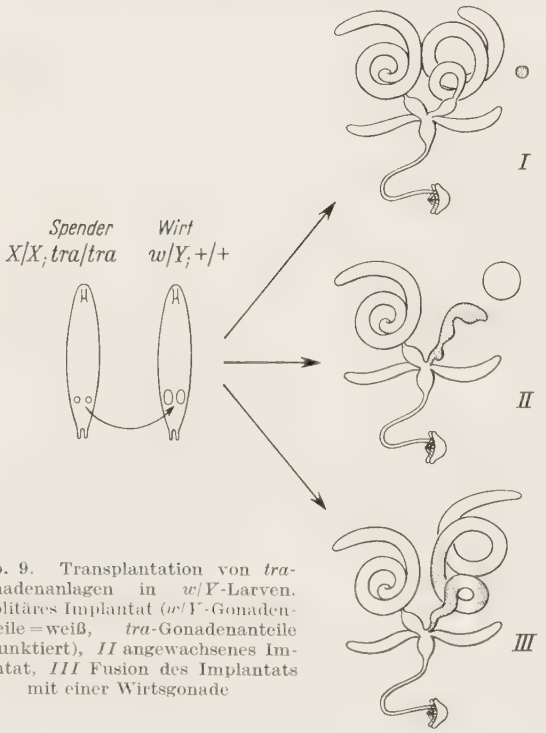


Abb. 9. Transplantation von *tra*-Gonadenanlagen in *w*/*Y*-Larven. *I* Solitäres Implantat (*w*/*Y*-Gonadenanteile = weiß, *tra*-Gonadenanteile = punktiert), *II* angewachsenes Implantat, *III* Fusion des Implantats mit einer Wirtsgonade

Um die Frage der Autonomie zu entscheiden, wurden *tra*-Gonadenanlagen des *tra*/*pink*-Stammes aus dem frühen dritten Larvenstadium in etwas ältere männliche *w*-Larven implantiert (Abb. 9).

Von 60 Tieren mit *tra*-Implantaten schlüpften 43 (= 72%, vgl. Tabelle 3). Diese Tiere wurden sämtlich präpariert. Im Verhalten der Implantate lassen sich drei Möglichkeiten unterscheiden: 1. das Implantat ist an eines der Vasa efferentia des Wirtstieres angewachsen (Abb. 9, II), 2. das Implantat hat sich solitär ohne Verbindung mit einem der Vasa efferentia entwickelt (Abb. 9, I), oder 3. das Implantat ist mit einer oder mit beiden Wirtsgonaden verschmolzen (Abb. 9, III).

1. Bei den Tieren mit normal angewachsenen Implantaten (20% der Fälle) war das Implantat nicht größer als gewöhnliche imaginale *tra*-Gonaden und zeigte die für diese charakteristische Pigmentierung. Die Implantate enthielten nur *tra*-Spermatogonien, *tra*-Nährzellen und degeneriertes Zellmaterial. Von den beiden Wirtsgonaden war in allen Fällen die eine an das zweite Vas efferens angewachsen und normal entwickelt. Die andere lag frei im Abdomen.

2. Wenn das Implantat überhaupt nicht anwächst (50% der Fälle), so findet man es frei im Abdomen als kleines kugeliges, intensiv pigmentiertes Gebilde, das in seiner Größe und Form kaum gegenüber dem Zeitpunkt der Implantation verändert ist. Histologisch unterscheiden sich die solitären *tra*-Gonadenimplantate nicht von normalen imaginalen *tra*-Gonaden.

3. In 30% der Fälle war das Implantat mit einer der Wirtsgonaden zu einer äußerlich einheitlichen „Mischgonade" verschmolzen. Die „Mischgonaden" sind stets normal angewachsen. Ihr Hüllgewebe bildet ein Mosaik aus Spender- und Wirtsgewebe (gelb-weiß), wobei in der Regel das Spendergewebe den Anschluß zum Vas efferens herstellt. Im Innern der Fusionsgonaden liegen Hodenfächer mit normaler Spermatogenese zwischen solchen mit degenerierenden *tra*-Spermatogonien und *tra*-Nährzellen. Innerhalb eines jeden Hodenfaches ist das Entwicklungsverhalten einheitlich. Die Hodenfächer sind durch Septen aus interstitiellen Zellen gegeneinander abgegrenzt. Ob einzelne *tra*-Keimzellen durch den engen Kontakt zwischen Wirts- und Spendergewebe nicht doch in ihrer Entwicklung gefördert worden sind und eine normale Spermatogenese durchlaufen haben, läßt sich nur im Kreuzungsexperiment prüfen. Kontrollkreuzungen mit *w*-Weibchen wurden mit allen 13 *w*-Männchen, die Fusionsgonaden besaßen, angesetzt. Die rund 700 Nachkommen hatten ausnahmslos weiße Augen.

Die Befunde zeigen übereinstimmend, daß durch die Transplantation der *tra*-Gonaden in normale männliche Larven und die Fusion mit *X/Y*-Gonaden der Entwicklungsblock der *tra*-Spermatogonien bzw. *tra*-Spermatocyten nicht aufgehoben wird. (Dr. G. Anders, Zürich, hat nach mündlicher Mitteilung gleiche Transplantationsexperimente mit entsprechenden Resultaten durchgeführt.)

III. Transplantation von tra-Gonadenanlagen in normale weibliche Larven

tra-Gonadenanlagen des dritten Larvenstadiums wurden in gleichalte weibliche Larven implantiert. Die 9 gelungenen Transplantationen hatten ein völlig einheitliches Ergebnis: Das Implantat wächst niemals an die weiblichen Ausführgänge an. Es unterscheidet sich morphologisch nicht von den freien *tra*-Gonaden, die man bei Implantation in männliche Larven erhält. Die Keimzellen entwickeln sich auch hier nur zu *tra*-Spermatogonien und *tra*-Nährzellen, soweit sie nicht degenerieren.

IV. Verhalten von X/O- und X/Y-Keimzellen in tra-Gonaden (Keimbahn-Mosaike)

Die Transplantationen haben gezeigt, daß das Entwicklungsverhalten der *tra*-Gonadenanlagen in den untersuchten Stadien autonom ist. Wie weit sich diese Autonomie auch auf die einzelnen Zellen der Gonadenanlagen, insbesondere auf die Keimbahnelemente erstreckt, geht aus den Transplantationsversuchen nicht hervor. Obwohl die Verhältnisse in den „Mischgonaden" dagegen sprechen, wäre es möglich, daß die Fehlleistungen der Keimbahnzellen auf einem physiologischen Defekt der *tra*-Hodenhülle oder anderer somatischer Zellen des Hodens (z. B. Apikalzellen, Terminalzellen und interstitiellen Zellen) beruht. Diese Möglichkeit läßt sich experimentell durch Erzeugung von *X*-Chromosomen-Mosaiken innerhalb der *tra*-Gonaden prüfen.

1. Herstellung der X-Chromosomen-Mosaike in der Keimbahn. Zellmosaike, die sich aus *X O*- und *X X*-Sektoren zusammensetzen, bilden sich besonders oft in solchen *X X*-Individuen, die ein ringförmiges *X*-Chromosom (*„X^c"*) besitzen. Das liegt an der Teilungsinstabilität solcher Ringchromosomen, die im Normalfall zur Entstehung von Gynandromorphen führt. Bei *tra*-Tieren würde sich die Bildung von *X X—X O*-Mosaiken somatisch nicht durch Gynandromorphismus, sondern nur durch die Markierung der *X*-Chromosomen nachweisen lassen. — Neben dem mitotischen Ring-*X*-Verlust in der Embryonal- und Postembryonalentwicklung muß auch mit einem meiotischen Verlust des Ring-*X*-Chromosoms in der vorhergehenden Eireifung gerechnet werden. Dieser würde nicht zur Entstehung von *X X—X O*-Mosaiken, sondern zur Entwicklung patrokliner Männchen führen.

Die Bildung somatischer Mosaike in *X/X^c*-Weibchen von *Drosophila melanogaster* ist besonders eingehend von BRAVER und BLOUNT (1950), BROWN und HANNAH (1952) sowie HANNAH (1955) studiert worden. Diese Untersuchungen bezogen sich auf die Körperfarbe, die Farbe und Form der Borsten, sowie die Pigmentierung der Augen, der Malpighischen Gefäße und der Hodenhüllzellen. 0,6—1,3% der untersuchten Tiere zeigten somatische Mosaike. Durch Altern der mütterlichen Elterntiere ließ sich der Mosaikprozentsatz steigern, im Maximum auf 17,2% (BROWN und HANNAH 1952).

In den vorliegenden Untersuchungen kam es auf Mosaikbildung in den Gonaden an. Über die Häufigkeit solcher Mosaike in den Gonaden von *X/X^c*-Weibchen ist nichts Genaues bekannt. Eventuell entstehende *X/O*-Oogonien könnten nur durch direkte cytologische Untersuchungen identifiziert werden. Falls patrokline Männchen in der Nachkommenschaft beobachtet würden, könnten diese ebenso gut erst durch einen Ring-*X*-Verlust in der Meiose nach Ablage der Eier entstanden sein. In den Gonaden von *X/X; tra/tra*-Individuen sollte sich dagegen die Entstehung von *X O*-Sektoren unter Umständen in einer Veränderung des Entwicklungsverhaltens der Keimzellen äußern.

Der Kreuzungsgang zur Herstellung von *X/X^c2; tra/tra*-Tieren ist in den Abb. 10 und 11 dargestellt. In einem Fall (Abb. 10) entstehen Tiere der Konstitution *sc^s1 B Ins w^a sc^8/X^c2 y v; tra p/tra*. Hier würden bei Ring-*X*-Verlust in der Keimbahn *X O*-Keimzellen entstehen. Außerdem läßt die Markierung mit *apricot* die Erkennung von somatischen Mosaiken in der Hodenhülle zu. Das zweite Kreuzungsschema (Abb. 11) führt zu Tieren der Konstitution *X.Y y/X^c2; tra tra p*. Hier würde der Ring-*X*-Verlust in der Keimbahn die normale Geschlechtschromosomenkonstitution von männlichen Keimbahnzellen herstellen. Die Markierung läßt in diesem Fall die Erkennung von somatischen Mosaiken nicht zu.

2. Das Entwicklungsverhalten der Gonaden von X/X^c2; tra/tra-Individuen. Das erste Kreuzungsexperiment (Abb. 10) ergab neben normalen (*B* bzw. *y c*) Männchen und normalen (*B/+*) Weibchen insgesamt 948 *tra*-Männchen (*B/+*) und 6 *B w^a*-Männchen (Tabelle 4; SEIDEL 1960).

Die extreme Ausprägung des *Bar*-Phänotypus bei den 6 *B w^a*-Männchen zeigt, daß diese Tiere zumindest im Bereich der Augen hemizygot sind, wobei sich das *X*-Chromosom durch den *w^a*-Phänotypus als vom Vater stammend erweist. Da alle 6 Tiere äußerlich völlig normalen Männchen gleichen, und da auch die Malpighischen Gefäße und die Hodenhülle den *w^a*-Phänotypus zeigen, darf man sie wohl als echte patrokline Männchen ansehen. Dement-

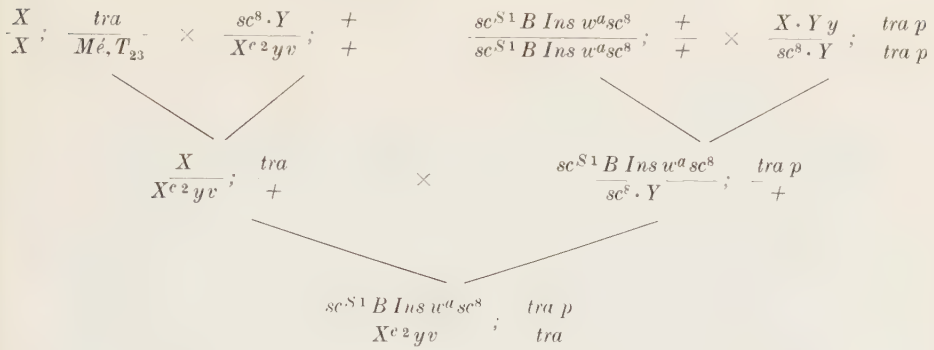


Abb. 10. Kreuzungsgang zur Herstellung von X/O — $X/X^{c\,2}$-Mosaiken in der Keimbahn von *tra*-Tieren. Zeichenerklärung: a) Chromosomen: $X^{c\,2}$ = *X-closed*², $X.Y$ = *attached-XY*, $sc^8.Y$ = *Y*-Chromosom mit distaler Spitze des $X(y^+)$. b) Markierungsfaktoren im *X*-Chromosom: y = *yellow*, v *vermilion*, $sc^{S\,1}$ = *scute* no. 1 of Sinitskaya, B = *Bar*, *Ins* = *Inversion s*, w^a = *white-apricot*, sc^8 = *scute*⁸. Markierungsfaktoren im 3. Chromosom: *tra* = *transformer*, *Mé*, T_{23} = *Moiré*-Translokation (2; 3), p = *pink*

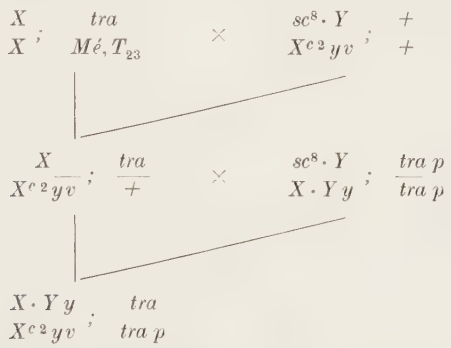


Abb. 11. Kreuzungsgang zur Herstellung von $X.Y/O$ — $X.Y/X^{c\,2}$-Mosaiken in der Keimbahn von *tra*-Tieren. Zeichenerklärung: a) Chromosomen: $X^{c\,2}$ = *X-closed*², $X.Y$ = *attached-XY*, $sc^8.Y$ = *Y*-Chromosom mit distaler Spitze des $X(y^+)$. b) Markierungsfaktoren im *X*-Chromosom: y = *yellow*, v = *vermilion*. Markierungsfaktoren im 3. Chromosom: *tra* = *transformer*, *Me*, T_{23} = *Moiré*-Translokation (2; 3), p = *pink*

sprechend glichen auch die Gonaden in der Größe und der Form völlig den Gonaden von normalen X/O-Männchen. Ob der Verlust des ringförmigen *X*-Chromosoms, der wohl bei allen 6 $B\ w^a$-Männchen die Ursache der Patroklinie bilden muß, bereits vor der Besamung der Eier oder erst in der ersten oder zweiten Furchungsteilung eingetreten ist, läßt sich nicht entscheiden.

Tabelle 4. *Häufigkeit der $X/X^{c\,2}$; tra/tra-Tiere mit Mosaikgonaden*

Alter der Muttertiere	Tiere ohne Gonaden-Mosaik	Tiere mit Gonaden-Mosaik	Patrokline Männchen	% Mosaiktiere
3 Tage	335	81	2	19,4
6 Tage	314	81	3	20,5
10 Tage	97	40	1	29,2
Zusammen	746	202	6	21,6
Kontrolle (X/X; *tra/tra*)	100	0	0	0

Die Gonaden der 948 X/X^{c2}; *tra/tra*- (= $B/+$) Männchen waren in jedem Fall einheitlich gelb pigmentiert. In den Hodenhüllzellen muß also das Ring-*X*-Chromosom und damit die X/X-Konstitution erhalten geblieben sein. Die Intensität der Pigmentierung ganzer Gonaden oder einzelner Abschnitte innerhalb einer Gonade war jedoch in zahlreichen Tieren

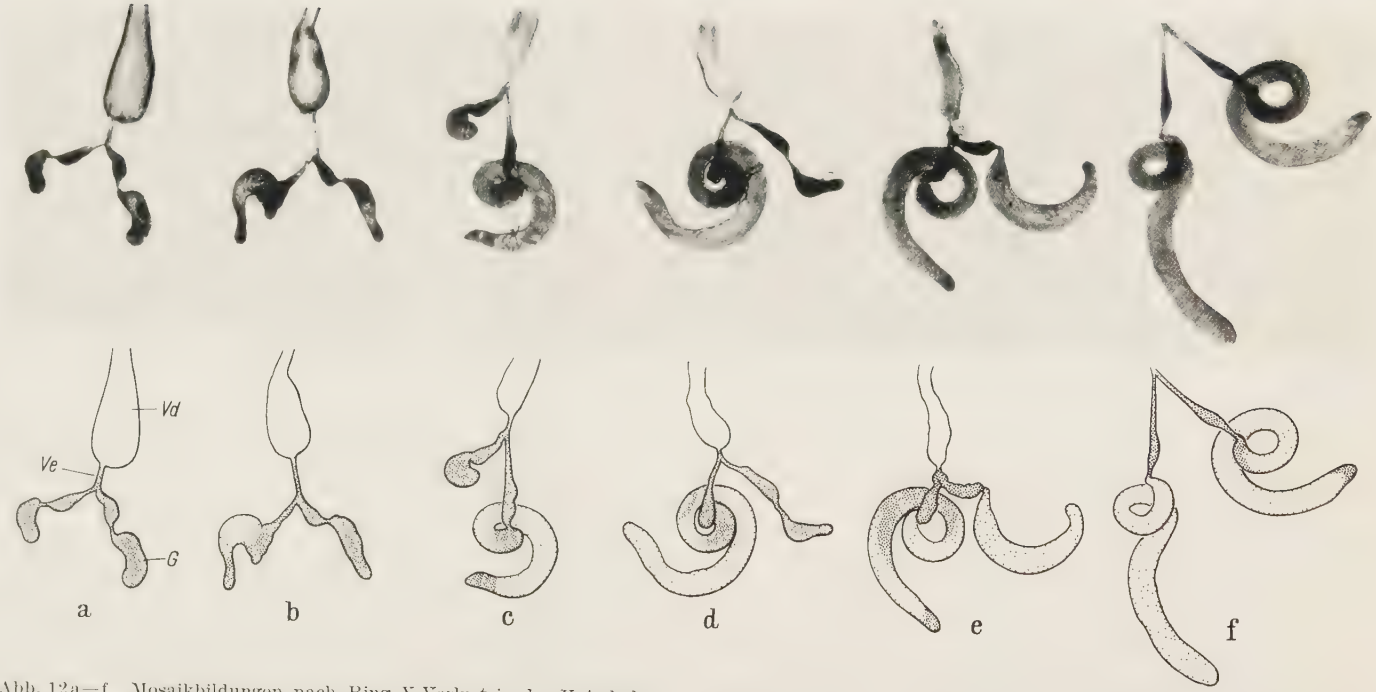


Abb. 12a—f. Mosaikbildungen nach Ring-*X*-Verlust in der Keimbahn. a Normale *tra*-Gonade als Kontrolle. b, c, d Einseitige Mosaikbildungen. e, f Zweiseitige Mosaikbildungen; die intensiv gelb pigmentierten Abschnitte (*X*/*X; tra*/*tra*-Keimbahngewebe) sind dicht punktiert, die heller gelb pigmentierten Abschnitte (*X*/*O; tra*/*tra*-Keimbahngewebe) sind schwach punktiert dargestellt. *G* Gonade; *Ve* Vas efferens; *Vd* Vas deferens; die Paragonien und der größere Teil des Vas deferens samt Samenpumpe sind bei der Präparation entfernt worden. Frischpräparate. Vergr. 14mal

schwächer als bei gewöhnlichen *tra*-Gonaden und näherte sich derjenigen normaler Hoden (vgl. S. 223). Immer war die Aufhellung der Pigmentierung mit einer Vergrößerung der Gonade verbunden, die teilweise soweit ging, daß die

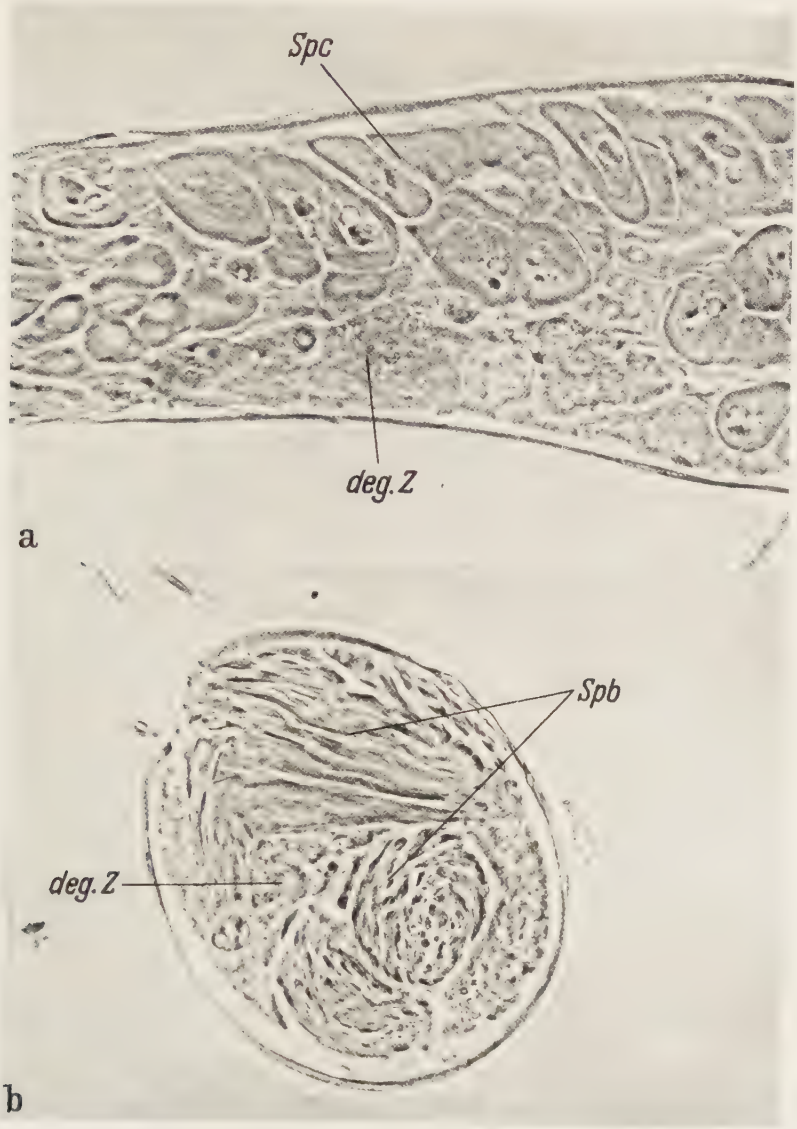
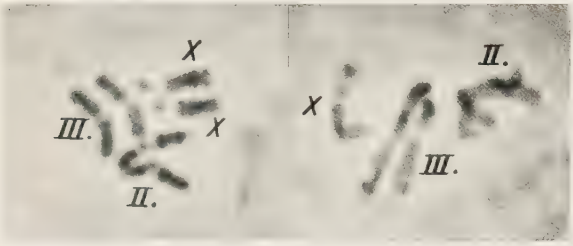


Abb. 13a u. b. *X/X$^{c\,2}$; tra/tra-Gonade*, in der sich nach Verlust des ringförmigen *X*-Chromosoms Spermien ausgebildet haben. a Längsschnitt durch die distale Region. b Querschnitt durch die proximale Region der gleichen Gonade. *Spb* Spermienbündel; *Spc* Spermatocyten; *deg.Z* degenerierende Zellen. OsO_4, Methacrylatschnitte, Phasenkontrast. Vergr. 530mal

Gonade in ihrer Größe und in ihrer Form von dem Hoden eines *X/Y*- (bzw. *X/O*-) Männchens nicht mehr zu unterscheiden war (Abb. 12). Wie aus den Abbildungen hervorgeht, finden sich alle denkbaren Übergänge zwischen typischen *tra*-Gonaden und normalen Hoden. Dabei verhalten sich auch innerhalb ein

und desselben Tieres die beiden Gonaden meist nicht gleich; oft ist überhaupt nur eine Gonade vergrößert. Ein Übergreifen der Normalisierung auf das Vas efferens wurde in den X/X^{c2}; *tra tra*-Mosaikgonaden jedoch nie beobachtet, d. h. das Vas efferens blieb in jedem Fall ebenso schmal, wie in gewöhnlichen X/X; *tra/tra*-Männchen und zeigte auch die besonders intensive Pigmentierung.

Im gleichen Grade wie die äußere Gestalt der „Mosaik-Gonaden" (s. unten) derjenigen von normalen Hoden angenähert ist, gleicht auch das histologische Bild der vergrößerten Gonadenabschnitte immer mehr demjenigen normaler Hoden. In Gonaden, in denen die erste Windung oder sogar die ganze Gonade die Ausmaße und die Gestalt eines normalen, imaginalen Hodens angenommen haben (Abb. 12d, e, f), finden sich außer Spermatogonien und Spermatocyten auch Spermatiden und Spermienbündel (Abb. 13). Der Anteil der sich normal entwickelnden Keimzellbereiche und die Lage dieser Bereiche innerhalb der Gonaden variieren. In allen Mosaikgonaden ist jedoch das Vas efferens von körnigem Material, wahrscheinlich Zelltrümmern, angefüllt. An das Vas efferens schließt sich bei den nur wenig vergrößerten Gonaden ein größerer Bereich mit Zelltrümmern an. Bei den stärker vergrößerten Gonaden liegen distal vom Vas efferens normale Spermienbündel. Ihre Anzahl wächst mit der Größe des normalisierten Hodenabschnittes. Die Spermien blieben stets unbeweglich. In allen deutlich vergrößerten Gonaden der X/X^{c2}; *tra/tra*-Männchen ist die weitere Gliederung normal, d. h. auf die Zone der Spermienbündel folgen Bündel von Spermatiden, dann Nester von sekundären und primären Spermatocyten und schließlich die Keimzone mit den Spermatogonien. In Einzelfällen, vor allem in solchen Gonaden, deren Normalisierung sich nur auf die erste Windung der Gonade erstreckt, kann die normale Gliederung durch zerfallenes Zellmaterial oder durch Nester von degenerierten Zellen unterbrochen sein.



a b

Abb. 14. a Mitotischer Chromosomensatz aus einer imaginalen *tra*-Gonade. b Spermatogonienmitose aus einer Mosaikgonade nach Ring-X-Verlust (genetische Konstitution XO; 2A). Carnoy, Orcein-Milchsäure. Vergr. 2250mal

Wie die Ausdifferenzierung von Spermatiden und Spermien in den X/X^{c2}; *tra tra*-Gonaden zeigt, müssen die Reifeteilungen und die Spermiohistogenese in den vergrößerten Abschnitten normal, d. h. wie bei X/O-Männchen abgelaufen sein. Ob das veränderte Entwicklungsverhalten der Keimbahnzellen in den vergrößerten Gonadenabschnitten auf dem Verlust des Ring-X-Chromosoms in den $X\ X^{c2}$; *tra tra*-Spermatogonien beruht, kann nur durch die Untersuchung von Spermatogonienmitosen, in denen die Chromosomenzahl leicht bestimmbar ist, geklärt werden. Dazu wurden die vergrößerten Gonadenabschnitte von 38 $X\ X^{c2}$; *tra tra*-Tieren paarweise zu Orcein-Milchsäure-Quetschpräparaten verarbeitet. In 27 dieser Präparate ließ sich der Chromosomensatz eindeutig feststellen. Obwohl stets mehrere Meta- oder Anaphasebilder untersucht wurden, war das Ringchromosom in keinem Fall mehr aufzufinden. Alle Mitosen zeigten die

X/O-Konstitution (Abb. 14b). Die vergrößerten Gonaden stellen demnach *X*-Chromosomenmosaike der Keimbahn (Keimbahnmosaike oder Mosaikgonaden) dar. Der Entwicklungsblock in den *tra*-Keimzellen kann also durch die Herstellung des männlichen *X*-Chromosomen-Autosomen-Verhältnisses vollständig aufgehoben werden; er ist nicht oder wenigstens nicht allein somatisch verursacht. Die Unbeweglichkeit der Spermien in diesen Mosaikgonaden erklärt sich aus der *X/O*-Konstitution der Spermatocyten, aus denen sie sich ableiten.

Die Häufigkeit des Ring-*X*-Verlustes in der Keimbahn ist außerordentlich hoch. Sie läßt sich durch Altern der mütterlichen Elterntiere im Maximum auf etwa 30% aller X/X^{c2}; *tra/tra*-Tiere steigern (vgl. Tabelle 4).

3. Das Entwicklungsverhalten der Gonaden von $X.Y/X^{c2}$; *tra/tra-Individuen.* Die zweite Kreuzung wurde in der Absicht angesetzt, vollfertile *tra*-Tiere mit Mosaikgonaden zu erhalten. Dazu wurde das *attached-X.Y*-Chromosom von Novitski (1952) eingekreuzt, das sämtliche Fertilitätsfaktoren des *Y* enthält. Die Markierung dieses Chromosoms ließ allerdings die Erkennung somatischer Ring-*X*-Verluste nicht zu. Die Kreuzung ergab 200 *tra*-Männchen der gewünschten Konstitution ($X.Y\ y/X^{c2}y\ v$; *tra/tra p*). Die Tiere wurden zunächst sämtlich präpariert, um festzustellen, ob Mosaikgonaden mit beweglichen Spermien vorkommen. Das Ergebnis zeigt Tabelle 5.

Tabelle 5. *Mosaikgonaden der* $X.Y/X^{c2}$; *tra/tra-Tiere*

Tiere ohne Gonadenmosaik	Tiere mit Gonadenmosaik		% Mosaiktiere
	ohne bewegliche Spermien	mit beweglichen Spermien	
136	57	7	32

Die Mosaikgonaden der $X.Y/X^{c2}$; *tra/tra*-Tiere boten im allgemeinen das gleiche Bild wie die X/X^{c2}; *tra/tra*-Gonaden. Von besonderem Interesse sind von den 64 Tieren, deren Gonaden deutlich vergrößert waren, jene 7, deren Vasa efferentia bewegliche Spermien enthielten. Im Gegensatz zu allen anderen Mosaikgonaden glichen hier die Vasa efferentia in der Größe und in der Intensität der Pigmentierung den Vasa efferentia normaler *X/Y*-Hoden. Man darf daher vermuten, daß die Verschmälerung der Vasa efferentia in den übrigen Mosaikgonaden entweder auf dem Mangel an beweglichen Spermien beruht oder durch das degenerierte Zellmaterial verursacht wird. Da in normalen *X/O*-Hoden die Vasa efferentia ähnlich verschmälert sind (Shen 1932), erscheint die erste Hypothese wahrscheinlicher.

Die genetische Markierung läßt in diesem Kreuzungsexperiment eine Unterscheidung der patroklinen Männchen von *tra*-Männchen, die infolge eines frühzeitigen Ring-*X*-Verlustes in der Keimbahn zwei normale Hoden besitzen, nicht zu. Mit Sicherheit können deshalb nur jene drei *tra*-Männchen mit beweglichen Spermien als Mosaiktiere angesprochen werden, bei welchen nur die eine der beiden Gonaden normalisiert ist. In diesen drei Fällen kann der Ring-*X*-Verlust nicht schon in der Oogenese oder in der ersten Furchungsteilung erfolgt sein.

Die Ergebnisse dieses Kreuzungsexperimentes zeigen, daß die Spermiohistogenese zur Bildung normal beweglicher Spermien in $X.Y/X^{c2}$; *tra/tra*-Gonaden führen kann, wenn durch Ring-*X*-Verlust in den Keimbahnzellen die genetische Konstitution *X.Y/O* hergestellt ist. Ob die *X.Y/O*-Spermien aus Gonadenmosaiken in den *tra*-Männchen besamungsfähig sind, konnte infolge der wenigen Gonadenmosaike mit beweglichen Spermien in diesem Kreuzungsexperiment nicht

geklärt werden. Diese Frage soll in einem weiteren, noch ausstehenden Kreuzungsansatz untersucht werden.

4. Verhalten der tra-Keimzellen in sehr kleinen Mosaiken. Nicht in allen Fällen von Mosaikbildung kommt es in den X/X^{c2}; *tra/tra* bzw. $X.Y/X^{c2}$; *tra/tra-*

Abb. 15a u. b. Längsschnitt. a Durch eine imaginale *tra*-Gonade in der Region, die sich an das Vas efferens und den Abschnitt A—B (AB) anschließt. b Durch ein „kleines Mosaik" (etwas weiter distal als a). *Spc* Spermatocyten; *Spg* Spermatogonien; *deg.Z.* degenerierende Zellen; *e.H.* einschichtiges Hüllgewebe; *m.H.* mehrschichtiges Hüllgewebe. Nach Methacrylatschnitten. Vergr. etwa 300mal

Gonaden nach dem Verlust des ringförmigen *X*-Chromosoms zur Ausdifferenzierung von Spermatiden und Spermien. Dies gilt in besonderem Maße für Gonaden mit Mosaikbereichen, die weniger als die erste Windung des Hodens umfassen („kleinere Mosaike"). In diesen kleinen Mosaiken (Abb. 12b) ist zwar die Anzahl der *tra*-Spermatogonien ebenfalls erhöht, auch wachsen die *tra*-Spermatocyten, verglichen mit den *tra*-Spermatogonien, beträchtlich heran, scheinen aber wie in normalen *tra*-Gonaden gegen Ende der Wachstumsphase zu degenerieren, da Spermatiden und Spermien nie auftreten (Abb. 15b). Dies Verhalten wirft die Frage auf, ob die Differenzierung der Keimzellen innerhalb der kleinen Mosaikflecken von derjenigen innerhalb der größeren grundsätzlich verschieden ist, oder

ob der Unterschied nur durch die Versuchsbedingungen und den Zeitpunkt der Präparation hervorgerufen worden ist.

Um diese Frage zu klären, wurden bei einer Wiederholung der ersten Kreuzung (Abb. 10) die imaginalen X/X^{c2}; *tra/tra*-Männchen 2, 4, 6 und 8 Tage nach dem Schlüpfen präpariert. Die Befunde sind in Tabelle 6 getrennt nach der Mosaikgröße und dem Zeitpunkt der Präparation aufgeführt.

Tabelle 6. *Anteil der größeren und kleineren Mosaike in Abhängigkeit vom Alter der tra-Tiere*

Alter der *tra*-Tiere	Anzahl der *tra*-Tiere	% der größeren Mosaike	% der kleineren Mosaike
2 Tage	46	69	31
4 Tage	80	61	39
6 Tage	57	70	30
8 Tage	97	70	30

Dabei zeigt sich, daß die Häufigkeit der größeren Mosaike, die Spermienbündel enthalten, mit dem Alter der X/X^{c2}; *tra/tra*-Männchen nicht zunimmt. Die Keimzellen in den kleinen Mosaiken können sich demnach auch bei längerer Entwicklungszeit nicht weiter als bis zu primären Spermatocyten entwickeln. Durch den Verlust des ringförmigen *X*-Chromosoms in den Keimzellen von

Abb. 16. Mosaikgonade aus einer X/X^{c2}; *tra/tra*-Puppe. *deg.Z* degenerierende Zellen; *Spc* Spermatocyten; *tra-Nz tra*-Nährzellen. OsO_4, Methacrylatschnitt, Phasenkontrast. Vergr. 340mal

X/X^{c2}; *tra/tra*-Tieren entstehen somit zwei Mosaiktypen, die sich durch die unterschiedliche Entwicklungspotenz der Keimzellen auszeichnen.

5. Die Entwicklung der Gonadenmosaike. In den beiden ersten Larvenstadien lassen sich Gonadenmosaike nicht erkennen, weil in diesen Stadien die X/X^{c2}; *tra/tra*-Anlagen in ihrer Zellstruktur ohnehin normalen Hodenanlagen gleichen (Abb. 2 II, III). *X/O*-Spermatogonien wären hier nur am Mitosebild zu identifizieren. Auch im dritten Larvenstadium ist die Identifizierung von Keimbahn-

mosaiken praktisch unmöglich. Untersucht wurden die Gonaden von 24 *X X*^{c2}; *tra tra*-Larven des dritten Stadiums, deren Geschwister als Imagines fast in jedem dritten Tier Gonadenmosaike aufwiesen. Es fanden sich lediglich drei Gonaden (zwei davon in einem Tier), die in ihrem histologischen Aufbau gleichalten, normalen Hodenanlagen entsprachen. Die restlichen *X X*^{c2}; *tra tra*-Gonaden des dritten Stadiums enthielten zwar einzelne Zellnester mit normal aussehenden Spermatogonien und Spermatocyten. Hierbei könnte es sich aber ebensogut um noch nicht degenerierte *X X*^{c2}; *tra tra*-Keimzellen handeln (vgl. S. 221).

Mit Sicherheit kann die Mosaikbildung in *X X*^{c2}; *tra tra*-Gonaden erst nach der Puppariumbildung erkannt werden. Ein Beispiel ist in Abb. 16 dargestellt. Diese Gonade besteht ungefähr zu einem Viertel aus einem wie in normalen Hoden in Fächer gegliederten Verband von Spermatogonien oder primären Spermatocyten. Derartige geschlossene Nester von Spermatogonien oder primären Spermatocyten kommen in dieser Ausdehnung in gleichalten *tra*-Gonaden niemals vor. Der übrige Teil der Gonade entspricht in seiner Zusammensetzung normalen *tra*-Gonaden dieses Alters. Er enthält Gruppen von *tra*-Nährzellen verschiedener Größe, die in degeneriertes Zellmaterial eingebettet sind.

E. Diskussion

Intersex-Mutationen wurden von STURTEVANT (1920) bei *Drosophila simulans*, von LEBEDEFF (1934) und von NEWBY (1942) bei *Drosophila virilis* entdeckt und beschrieben. Alle diese Mutationen sind autosomal und, mit Ausnahme von „*Ix*" bei *Drosophila virilis*, rezessiv; sie bewirken nur eine teilweise Umwandlung der Geschlechtsmerkmale in Richtung auf das männliche Geschlecht. Extremere Intersexe ergibt die dominante, autosomale Mutation „*Hr*" (*Hermaphrodite*) bei *Drosophila melanogaster* (GOWEN 1942). Sie bewirkt außerdem die gleichzeitige Ausbildung der vollständigen inneren Genitalapparate beider Geschlechter. Die Mutation „*tra*" (STURTEVANT 1945) ist ein rezessives Allel von „*Hr*", wirkt sich aber, wie auch die vorstehenden Untersuchungen zeigen, in homozygoter Form viel stärker geschlechtsumwandelnd als alle anderen bisher bei *Drosophila* bekannten Intersex-Mutationen aus. Die *X X*; *tra tra*-Tiere verhalten sich nur in ihrer Größe und Entwicklungsgeschwindigkeit, also rein quantitativen Merkmalen, wie Weibchen (vgl. GOLDSCHMIDT 1953). Weitere quantitative Abweichungen von normalen Männchen bestehen nach BROWN und KING (1960) in der Flügellänge und in der Anzahl der Borsten in den Geschlechtskämmen. Weiblich ist ferner die Manifestation der geschlechtsgebundenen Mutationen ohne Dosiskompensation (STURTEVANT 1945).

Betrachtet man Bau und Funktion der geschlechtlich differenzierten Organe von *tra*-Tieren unter rein qualitativen Gesichtspunkten, so muß aber das Soma dieser Tiere als einheitlich männlich (also nicht als intersexuell) angesehen werden. Dies wird durch die Befunde der Transplantations- und Kreuzungsexperimente unterstrichen. *tra*-Tiere mit normalen Hodenimplantaten können im Kreuzungsansatz *X Y*-Männchen ersetzen. Das Soma dieser Tiere ist also männlich voll funktionsfähig. Der einzige qualitative Unterschied zwischen *tra*-Männchen und normalen Männchen liegt in der vollständigen Sterilität der *tra*-Gonaden, die, wie die histologischen Untersuchungen und die Experimente zeigen, auf einer autonomen Entwicklungsstörung der Keimzellen beruht.

In den *tra*-Keimbahnzellen manifestieren sich während der Larvenstadien zunächst männliche und nach dem Beginn der Metamorphose auch weibliche Entwicklungstendenzen (*tra*-Spermatocyten, *tra*-Nährzellen). Während sich in den somatischen Anteilen die männliche Differenzierung der *tra*-Gonadenanlagen als autonom erweist (Transplantationsexperimente), kann in den frühen Stadien der Keimbahn die männliche Entwicklungstendenz entweder auf der Wirkung der Mutation direkt beruhen oder aber durch das männliche somatische Gewebe der Gonade induziert worden sein. Die Klassifizierung der *tra*-Keimbahnzellen als männlich gründet sich 1. auf die Anzahl der Keimbahnzellen bei Bildung der Gonadenanlagen, 2. auf Gestalt und Lage des Nukleolus in den Keimbahnzellen und 3. auf den Differenzierungsbeginn der *tra*-Keimbahnzellen. Bei *Drosophila* werden von 40 potentiellen Keimbahnzellen in weiblichen Embryonen 5—7, in männlichen 9—13 durch somatisches Gewebe zu einer Gonadenanlage zusammengefaßt (Sonnenblick 1941). Für den Unterschied in der Anzahl der Keimbahnzellen bei der Bildung der Gonadenanlagen dürfte im allgemeinen und ebenso auch in diesem Fall das Soma verantwortlich sein. Ob Lage und Gestalt der Nukleolen in den *tra*-Keimbahnzellen autonom angelegt oder somatisch induziert worden sind, läßt sich ohne experimentelle Beeinflussung einzelner Zellen (z. B. durch Zelltransplantationen) nicht beurteilen. Ähnlich verhält es sich mit dem Differenzierungsbeginn. Die Bildung von Nährzellen ist dagegen sicher eine autonom weibliche Differenzierungsleistung der *tra*-Keimbahn: sie wird jedoch erst in der Metamorphose erkennbar. Die Autonomie zeigt sich besonders deutlich in den Gonadenmosaiken, wo nebeneinander Spermien und Nährzellen gebildet werden können. Da in den *tra*-Gonaden zu Beginn der Metamorphose nur Spermatogonien nachweisbar sind, müssen auch die Nährzellen von diesen abstammen. Das Gleiche gilt für die von Brown und King (1960) beobachteten Oocyten. Die frühen Stadien der Keimbahn in den *tra*-Gonaden (*tra*-Spermatogonien) sind demnach noch nicht endgültig geschlechtlich determiniert, obwohl sie ihrer Cytologie nach eindeutig männlich sind. Das Zellstadium, in dem der Umschlag in die weibliche Richtung erfolgt, ist nicht genau bestimmbar. Gegen die Möglichkeit, daß auch noch *tra*-Spermatocyten in Nährzellen umgewandelt werden können, sprechen jedoch zwei Beobachtungen: Die kleinsten Nährzellen sind in jedem Fall deutlich kleiner als herangewachsene *tra*-Spermatocyten, und die Nährzellen sind niemals in geschlossenen Gruppen von 16 Zellen angeordnet.

Die Degeneration der *tra*-Spermatocyten ist neben der Entstehung von Nährzellen der auffälligste Vorgang in der Entwicklung der *tra*-Gonaden. Während die Tatsache, daß sich die Nährzellen differenzieren, zwanglos aus der *X*/*X*-Konstitution der *tra*-Keimbahn erklärt werden kann (in normalen *X Y*- oder *X*/*O*-Hoden sind niemals Nährzellen gefunden worden), ist ein kausaler Zusammenhang zwischen der *X*/*X*-Konstitution und der Degeneration der *tra*-Spermatocyten weniger selbstverständlich. Dieser Zusammenhang wird jedoch durch die vorliegenden Untersuchungen an den Gonadenmosaiken wahrscheinlich gemacht. Wird in den X/X^{c2}; *tra*/*tra*- bzw. $X.Y/X^{c2}$; *tra*/*tra*-Keimbahnzellen ein *X*-Chromosom eliminiert, so läuft in den meisten Fällen die Spermatogenese normal bis zur Ausbildung von Spermien ab. Die normal männliche Keimzelldifferenzierung ist in diesem Fall allein von der Änderung der genetischen Konstitution der Keimbahnzellen und nicht von derjenigen des umgebenden Somas verursacht.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß die Entwicklung der *X/O*- bzw. *X.Y/O*-Bereiche nicht in allen Keimbahnmosaiken zur Ausdifferenzierung von Spermien führt, sondern in einigen Fällen auf dem Spermatocytenstadium abbricht. Diese „kleinen" Mosaike sind also lediglich durch die Vermehrung der Spermatogonien- und Spermatocytenstadien gekennzeichnet. Vergleicht man den Spermiengehalt normaler *X/Y*-Hoden mit dem Spermiengehalt der kleinsten Spermien-Mosaike, so kann man unter Berücksichtigung der durchschnittlichen Spermienproduktion einer Keimbahnzelle (TIHEN 1946) abschätzen, daß Ring-*X*-Verluste, die zu Spermienmosaiken führen, in der Embryonalentwicklung oder im ersten Larvenstadium stattfinden müssen. Die „kleinen" Mosaike müssen also auf Ring-*X*-Verluste im zweiten oder dritten Larvenstadium zurückgehen. Es ist möglich, daß die Entwicklung der *X/X^c2; tra/tra*-Keimbahnzellen vom zweiten Larvenstadium an bereits irreversibel in Richtung auf die Nährzellbildung umschlägt, und daß deshalb der Ring-*X*-Verlust nicht mehr voll wirksam wird.

Der Einfluß der Mutation „*tra*" auf die Keimbahn erweist sich demnach als grundsätzlich verschieden von ihrem Einfluß auf das Soma. Während das Soma der *tra*-Tiere qualitativ einheitlich männlich ist, können sich die *tra*-Keimbahnzellen nicht normal männlich differenzieren. Entweder ist die männliche Differenzierung der Keimbahn im Gegensatz zu der des Somas immer an die *XY:2A* (bzw. *XO:2A*)-Konstitution gebunden, wobei die Konstitution vielleicht nur in bestimmten Phasen der Entwicklung gegeben sein muß, oder es besteht eine spezifische Wechselwirkung zwischen den *X/X; tra/tra*-Keimzellen und dem *X/X; tra/tra*-Soma, die sich speziell in den *tra*-Tieren als Hemmung der Spermatogenese auswirkt, und die durch den Verlust eines der beiden *X*-Chromosomen in der Keimbahn aufgehoben werden könnte.

NEUHAUS (1937) hat von *X.Y^s/Y*-Männchen (Männchen, an deren *X*-Chromosom der kurze Arm des *Y*-Chromosom transloziert ist) *attached-X* ($\overline{XX}$)-Töchter erhalten, deren *X*-Chromosomen beide vom Vater stammen mußten. Die Entstehung von attached-*X*-Chromosomen in der Spermatogenese von *X.Y^s/Y*-Männchen läßt sich nach NEUHAUS als Folge eines Austausches zwischen den beiden Chromatiden des *X*-Chromosoms im Heterochromatin des *Y^s*-Armes erklären. Dieser Befund scheint der These zu widersprechen, daß die normale Spermatogenese auf jeden Fall die *XY:2A*-Konstitution voraussetzt.

Im Anschluß an NEUHAUS haben STERN und SHERWOOD (1962) versucht, die Bildung von *XX*-Spermien aus *XXY*-Urkeimzellen (die durch mitotisches Non-disjunction entstanden waren), nachzuweisen. Dieser Nachweis gelang jedoch nicht. Entweder war also die Zahl von 8500 untersuchten Männchen zu gering, oder, was STERN und SHERWOOD ebenfalls offenlassen, die eventuell entstandenen *XXY*-Urkeimzellen sind ebenso wie die *X/X; tra/tra*-Keimzellen nicht in der Lage, die Spermatogenese normal zu Ende zu führen. – Die Befunde von NEUHAUS würden sich dann durch die Annahme erklären lassen, daß die von ihm beobachteten *attached-X*-Chromosomen wahrscheinlich erst in der Meiose, d. h. nach Abschluß des Spermatocytenwachstums entstanden sind. Meiotische Verschiebungen in der *X*-Chromosomen-Konstitution wirken sich bekanntlich auf die Funktionsfähigkeit der Spermien nicht mehr aus (MORGAN, BRIDGES und STURTEVANT 1925).

Wenn es richtig ist, daß die *XX*-Konstitution in den Urkeimzell- und Gonienstadien eine normale Spermatogenese nicht zuläßt, so ist vielleicht auch umgekehrt die Oogenese an die *XX:2A*-Konstitution der Keimzellen gebunden. Diese Frage ist aber technisch kaum angreifbar. Vorausgesetzt, daß der Verlust des ringförmigen *X*-Chromosoms in den Gonaden normaler Weibchen in vergleichbarer Häufigkeit wie in den *tra*-Gonaden und ungefähr zum gleichen Zeitpunkt geschieht, müßten in den Ovaranlagen von X/X^{c2}-Weibchen einzelne Keimzellen die Konstitution *XO:2A* besitzen. Bei 100 daraufhin untersuchten X/X^{c2}-Weibchen konnten keinerlei Defekte in den Ovarien und auch nicht der Ausfall ganzer Ovarien beobachtet werden. Entweder entwickeln sich also *XO:2A*-Oogonien normal, oder, wenn Ring-*X*-Verluste überhaupt vorkommen, müssen diese später liegen als in X/X^{c2}; *tra/tra*-Männchen, so daß vereinzelte degenerierende Oogonien oder Oocyten innerhalb der Gonade nicht identifiziert werden können.

Wie sich gezeigt hat, ist das einzige, was die *tra*-Tiere von normalen Männchen trennt, das Verhalten ihrer Gonaden bzw. ihrer Keimzellen. Ganz streng genommen ist durch die Mosaikversuche die Möglichkeit, daß einzelne somatische Bereiche innerhalb des *X/X; tra/tra*-Hodens anders als in normalen *X/Y*-Hoden funktionieren, noch nicht ausgeschlossen, da die geringe Zahl der erhaltenen Mosaike mit beweglichen Spermien es nicht zuließ, diese Mosaiktiere auf ihre Besamungsfähigkeit zu prüfen. Den einzigen Fall, wo Spermienbeweglichkeit nicht mit Besamungsfähigkeit gekoppelt ist, bilden die Fusionsgonaden, die nach Transplantation von *w/Y; +/+* Gonadenanlagen in *X/X ; tra/tra*-Larven entstanden sind (S. 224). Hier aber kann weder die *tra/tra*-Konstitution noch die *X/X*-Konstitution als solche für die Sterilität verantwortlich gemacht werden.

Nach allem scheint es problematisch, Tiere als Intersexe zu bezeichnen (Goldschmidt; Brown und King), die durch experimentelle Eingriffe, die sich im Prinzip nur auf die Keimbahn beziehen, zu funktionsfähigen Männchen werden können. Nur die Keimbahn der *X/X ; tra/tra*-Tiere könnte man als intersexuell betrachten, da hier Zellen der gleichen genetischen Konstitution sich nebeneinander sowohl in männlicher als auch in weiblicher Richtung differenzieren (vgl. Seiler 1949). Würde auch die Keimbahn durch die Mutation *tra* eindeutig männlich werden, so wäre damit offensichtlich ein völlig neuer Geschlechtsbestimmungsmechanismus mit weiblicher Heterogametie konstituiert. Für diesen Fall würde das dritte Chromosom formal als Geschlechtschromosom zu betrachten sein, da es den Geschlechtsdifferentiator enthielte. Der Chromosomensatz von Männchen und Weibchen würde sich dann cytologisch nicht unterscheiden. Diese Situation ist bei vielen *Dipteren*, insbesondere bei den *Chironomiden* und *Culiciden* verwirklicht, allerdings mit männlicher Heterogametie (Gilchrist und Haldane 1947, Beermann 1955). Es ist durchaus vorstellbar, daß in der Evolution dieser Gruppen ein älterer Geschlechtsbestimmungsmechanismus vom *Drosophila*-Typus durch Auftreten eines dominanten (bzw. epistatischen) *tra*-Faktors von einem einfacheren, monofaktoriellen abgelöst worden ist.

Summary

1. The influence of the third chromosome mutant *transformer* (*tra;* locus between *st:* 44,0 and *cp:* 45,3) on sexual differentiation of somatic and germ-line tissue was investigated. *X/X; tra/tra* individuals appear phenotypically male.

2. During the embryonic development and the first larval instar the anlagen of *tra*-gonads and normal testes are indistinguishable with respect to (1) the number of germ cells in the earliest recognizable anlage, (2) the position and shape of the nucleolus in the cells, and (3) the onset of the growth period of the primary spermatocytes. — Soon after this early period, however, *tra*-spermatocytes begin to degenerate.

3. After the beginning of metamorphosis nurse cells characteristic for ovaries develop in the *tra*-gonads.

4. *tra*-gonads are superficially similar to normal testes anatomically, morphologically and in their harmonious development with relation to the male genital apparatus. Also, the pigmentation and structure of the epithelial sheath of the gonads seem to be the same as in normal *X/Y*-testes.

5. *X X; tra tra*-flies, although sterile, behave like normal males in copulation. Anlagen of normal testes implanted in *X/X; tra/tra*-larvae developed normally and became attached to the host's genital ducts. These *tra*-flies were fertile.

6. The abnormal development of the *tra*-gonads proved to be autonomous; no differences were observed when those anlagen were transplanted into either normal male or female larvae.

7. If some of the *tra*-germ cells with the genetic constitution X/X^{c2}; *tra/tra* or $X\,Y\,X^{c2}$; *tra tra* lose one of their *X*-chromosomes, the gonads become mosaic for single- and double-*X*-tissue. Single-*X* areas can be recognized by a more pale pigmentation of the sheath and by a locally increased growth of this gonad region.

8. In small single-*X*-regions only the number of spermatogonia and spermatocytes increased. In larger regions germ cell differentiation resembled more closely that of normal males and in a few $X\,Y/X^{c2}$; *tra/tra*-flies motile sperms were found.

9. The frequency of the *X/X; tra/tra*-flies with gonadal mosaics reached a maximum of 29.2% when the female parents had been aged for ten days.

10. The results demonstrate that if *tra* is homozygous in female zygotes *(XX:2A)* the developing somatic tissue is male. In somatic tissue of those animals, therefore, the normal sex determination mechanism is not effective. Only in germ cells the *XY:2A* (or *XO:2A*) constitution is essential for normal spermatogenesis and spermiohistogenesis, whether *tra* is present or not.

Literatur

ANDERS, G.: Einwirkung eines geschlechtsumwandelnden Faktors („*tra*") auf den pleiotropen Effekt des Gens „*lozenge-clawless*" („lz^{cl}") bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. **32**, 510—512 (1948).

BEERMANN, W.: Geschlechtsbestimmung und Evolution der genetischen *Y*-Chromosomen bei *Chironomus*. Biol. Zbl. **74**, 525—544 (1955).

BODENSTEIN, D.: The postembryonic development of *Drosophila*. In: DEMEREC, Biology of Drosophila. New York: John Wiley & Sons 1950.

BRAVER, G., and J. L. BLOUNT: Somatic elimination of ring chromosome in *Drosophila melanogaster* (Abstr.). Genetics **35**, 98 (1950).

BROWN, E. H., and R. C. KING: Studies on the expression of the *transformer* gene of *Drosophila melanogaster*. Genetics **46**, 143—156 (1960).

BROWN, S. W., and A. HANNAH: An induced maternal effect on the stability of the ring-*X*-chromosom of *Drosophila melanogaster*. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **38**, 687—693 (1952).

Bucher, N.: Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **64**, 91—188 (1957).

Ephrussi, B., and G. W. Beadle: A technique of transplantation for *Drosophila*. Amer. Naturalist **70**, 218—225 (1936).

Gilchrist, B. M., and J. B. S. Haldane: Sex linkage and sex determination in a mosquito, *Culex molestus*. Hereditas (Lund) **33**, 175—190 (1947).

Goldschmidt, R.: Heredity within a sex-controlled structure of *Drosophila*. J. exp. Zool. **122**, 53—95 (1953).

Gowen, J. W.: On the genetic basis for hermaphroditism. Anat. Rec. **84**, 458 (1942).

—, and S. T. C. Fung: Determination of sex through genes in a major sex locus in *Drosophila melanogaster*. Heredity **11**, 397—402 (1957).

Hadorn, E.: Letalfaktoren. Stuttgart: Georg Thieme 1955.

— G. Bertani und J. Gallera: Regulationsfähigkeit und Feldorganisation der männlichen Genital-Imaginal-Scheibe von *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **144**, 31—70 (1949).

Hannah, A.: The effect of aging the maternal parent upon the sex ratio in *Drosophila melanogaster*. Z. indukt. Abstamm. u. Vererb.-Lehre **86**, 547—599 (1955).

— Environmental factors affecting elimination of ring-*X*-chromosome in *Drosophila melanogaster*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **86**, 600—627 (1955).

Lebedeff, G. A.: A study of intersexuality in *Drosophila virilis*. Genetics **24**, 553—586 (1939).

Morgan, T. H., C. B. Bridges and A. H. Sturtevant: The genetics of *Drosophila*. Bibl. genet. **2**, 1—262 (1925).

Muller, H. J.: Male-sterility of *transformed* females despite provision of *X:Y* balance characteristic of males. D I S **29**, 147 (1955).

Neuhaus, M. J.: Additional data on crossing-over between *X* and *Y*-chromosome in *Drosophila melanogaster*. Genetics **22**, 333—339 (1937).

Newby, W. W.: A study of intersexes produced by a dominant mutation in *Drosophila virilis*. Univ. of Texas Publ. No 4228, 113—145 (1942).

Novitski, E.: Autonomy of the sterility of *transformed* females. D I S **25**, 121 (1951).

— The genetic consequences of anaphase bridge formation in *Drosophila*. Genetics **37**, 270—278 (1952).

Pontecorvo, G.: Synchronous mitoses and differentiation, sheltering the germ track. D I S **18**, 54—55 (1944).

Seidel, S.: Aufhebung der Sterilität von „*Transformer*"-Männchen durch Erzeugung von Keimbahn-Mosaiken. Naturwissenschaften **47**, 609—610 (1960).

Seiler, J.: Das Intersexualitätsphänomen. Experientia (Basel) **5**, 425—438 (1949).

Shen, T. H.: Zytologische Untersuchungen über Sterilität bei Männchen von *Drosophila melanogaster* und bei F_1-Männchen der Kreuzung zwischen *D. simulans*-Weibchen und *D. melanogaster*-Männchen. Z. Zellforsch. **15**, 547—580 (1932).

Sonnenblick, B. P.: Germ cell movements and sex differentiation of the gonads in the *Drosophila* embryo. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **27**, 484—489 (1941).

— The early embryology of *Drosophila melanogaster*. In: Demerec, Biology of Drosophila. New York 1950.

Stern, C., and E. R. Sherwood: Can primordial germcells of the genotype *XXY* produce functional sperm? D I S **36**, 118 (1962).

Sturtevant, A. H.: The *vermilion* gene and gynandromorphism. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **17**, 70—71 (1920).

— Intersexes in *Drosophila simulans*. Science **51**, 325—327 (1920).

— A gene in *Drosophila melanogaster* that transforms females into males. Genetics **30**, 297 bis 299 (1945).

Tihen, J. A.: An estimate of the number of cell generations preceeding sperm formation in *Drosophila melanogaster*. Amer. Naturalist **80**, 389—392 (1946).

Sigrid Seidel, 355 Marburg a.d.Lahn, v. Harnackstraße 22

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

Lebenslauf

Am 3. Dezember 1932 wurde ich als Tochter des Universitätsprofessors Dr. Friedrich Seidel und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Bölsch, in Königsberg in Ostpreußen geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Berlin-Frohnau; anschließend ging ich in Rotenburg an der Fulda, Oranienburg (bei Berlin), Uelzen und zuletzt in Iburg, Kreis Osnabrück zur Oberschule. Die Reifeprüfung legte ich am 15. März 1952 an der staatlichen Heimschule Iburg ab.

Studiert habe ich in Freiburg im Breisgau, Bonn, Marburg und Tübingen. In Freiburg hörte ich vor allem die biologischen Grundvorlesungen in den Instituten von Herrn Professor Koehler und Herrn Professor Oehlkers. In Bonn nahm ich an den chemischen Praktika bei Herrn Professor Helferich und Herrn Professor Schmitz-Du Mont teil. Die folgenden Semester in Marburg waren in erster Linie den biologischen Praktika (Herr Dr. Beermann und Herr Professor Steffen) gewidmet. Daneben hörte ich Vorlesungen in Germanistik bei Professor Sengle und Herrn Professor Schmitt. Außerdem fertigte ich im Rahmen der Anforderungen für die wissenschaftliche Vorprüfung in Erziehungswissenschaften im Institut von Herrn Professor Düker eine experimentelle psychologische Arbeit an. Meine akademischen Lehrer in Tübingen waren die Herren Professoren Bünning, Friedrich-Freksa, Grell, Hassenstein, Schramm, Rüdorff und Weitzel.

Die vorliegende Arbeit entstand in den Jahren 1959 bis 1962 in Tübingen am Max-Planck-Institut für Biologie unter Anleitung von Herrn Professor Dr. W. Beermann.